

DETEKSI RESISTENSI INSEKTISIDA MALATHION DENGAN TEKNIK  
NODA KERTAS SARING PADA LARVA *Culex quinquefasciatus* SAY  
(DIPTERA: CULICIDAE) DI KABUPATEN SLEMAN DAERAH ISTIMEWA  
YOGYAKARTA

Tesis

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Sarjana S<sub>2</sub>

Program Studi

Ilmu Kedokteran Tropis



Diajukan Oleh :

Kusbaryanto

9991/III-2/737/97

PROGRAM PASCA SARJANA  
UNIVERSITAS GADJAH MADA  
YOGYAKARTA



# Tesis

Deteksi Resistensi Insektisida Malathion dengan Teknik Noda Kertas Saring  
pada Larva Cx. quinquefasciatus Say (Diptera : Culicidae) di Sleman  
Daerah Istimewa Yogyakarta

dipersiapkan dan disusun oleh  
Kusbaryanto

telah dipertahankan di depan Dewan Penguji  
pada tanggal 27 April 2001

## Susunan Dewan Penguji

Pembimbing Utama



Prof. dr. Sugeng Yuwono M, DAP&E, M.Sc  
Pembimbing Pendamping I



dr. Susanto Tjokresonto M. Commh, MSc, PhD  
Pembimbing Pendamping II

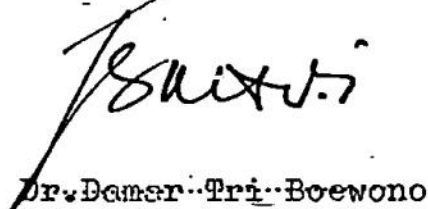
Anggota Dewan Penguji Lain



Prof. dr. Supargiyono, SU, Ph.D



Prof. Dr. dr. Noerhajati DTMS  
Pembimbing Pendamping II



Dr. Damar Tri Boewono

Tesis ini telah diterima sebagai salah satu persyaratan  
untuk memperoleh gelar Magister

Tanggal ..27.. April 2001.....



Prof. dr. Supargiyono SU, Ph.D  
Pengelola Program Studi : .....

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam tesis ini tidak terdapat karya yang pernah diajarkan untuk memperoleh gelar keserjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu

## PRAKATA

Puji syukur kepada Allah swt, karena hanya dengan berkah dan rahmatnya maka tesis ini dapat tersusun.

Tesis ini dimaksudkan untuk memenuhi sebagian persyaratan menempuh derajat sarjana S<sub>2</sub> program studi Ilmu Kedokteran Tropis program Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada.

Tidak lupa dalam kesempatan ini di sampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Prof. dr. Sugeng Juwono, M, DAP & E,MSc sebagai pembimbing utama.
2. dr. Susanto Tjokrosonto,M.Commh,M.Sc,Ph.D sebagai pembimbing pendamping.
3. Prof. dr. Supargiyono,DTM&H,SU,Ph.D, sebagai pengelola program studi Ilmu Kedokteran Tropis.
4. Prof. Dr. dr. Noerhajati, DTM & H sebagai direktur Pusat Kedokteran Tropis UGM.
5. Prof. Dr. dr. Hardyanto Soebono, Sp KK, sebagai pembimbing akademik.
6. Prof. Dr. dr. H.M. Ismadi, sebagai mantan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
7. dr.H.Erwin Santosa, Sp.A,M.Kes, sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
8. dr. Sunartono,M.Kes, sebagai kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Sleman.
9. Semua pihak yang telah membantu penelitian hingga tersusunnya tesis ini

## DAFTAR ISI

LEMBAR PERNYATAAN .....	ii
LEMBAR PERSETUJUAN .....	iii
PRAKATA .....	iv
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR TABEL .....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN .....	ix
INTISARI .....	x
ABSTRACT .....	xi
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang .....	1
B. Perumusan Masalah .....	3
C. Keaslian Penelitian .....	3
D. Manfaat Penelitian .....	4
E. Tujuan Penelitian .....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Ciri Khas, Perilaku Biologis dan Kepentingan <i>Culex quinquefasciatus</i> .....	6
B. Tipe – tipe dan Mekanisme Resistensi Serangga terhadap Insektisida .....	8
C. Berbagai Cara Deteksi Resistensi Serangga terhadap Insektisida .....	12
D. Identifikasi Larva <i>Culex quinquefasciatus</i> .....	12
E. Pengendalian Penyakit Demam Berdarah Dengue dengan <i>Fogging</i> /pengasapan.....	13
F. Landasan Teori .....	14
G. Hipotesis .....	15
H. Kerangka Pikir .....	16
I. Rencana Penelitian .....	17
BAB III. CARA PENELITIAN	
A. Bahan dan Lokasi Penelitian .....	20
B. Alat-alat Penelitian .....	22
C. Jalan Penelitian .....	23
D. Interpretasi Data .....	26
E. Analisis Hasil Penelitian .....	33
F. Kesulitan dan Keterbatasan Penelitian .....	33
BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil Penelitian .....	35

C. Ulasan tentang Pemakaian Insektisida Pertanian di Kabupaten Sleman.....	44
D. Ulasan tentang Kondisi di Lokasi Pengambilan Sampel untuk Kontrol .....	45
BAB V. SIMPULAN DAN SARAN	
A. Simpulan .....	49
B. Saran .....	50
BAB VI. RINGKASAN .....	51
DAFTAR PUSTAKA .....	61
LAMPIRAN	

## DAFTAR TABEL

1. Skor standar untuk hasil penelitian substrat  $\alpha$  naphthyl acetate.....27
2. Skor standar untuk hasil penelitian substrat  $\beta$  naphthyl acetate.....28
3. Hasil uji resistensi *Cx. quinquefasciatus* terhadap insektisida malathion di Kabupaten Sleman dengan  $\alpha$  naphthyl acetate.....36
4. Hasil uji resistensi *Cx. quinquefasciatus* terhadap insektisida malathion di Kabupaten Sleman dengan  $\beta$  naphthyl acetate.....37

## DAFTAR GAMBAR

1. Kerangka Pikir Penelitian .....	16
2. Urutan skor dan warna hasil bacaan TLC scanner untuk hasil penelitian dengan substrat $\alpha$ naphthyl acetate .....	29
3. Urutan skor dan warna hasil bacaan TLC scanner untuk hasil penelitian dengan substrat $\beta$ naphthyl acetate .....	30
4. Hasil uji perbandingan peningkatan aktifitas enzim <i>esterase</i> non spesifik antara prosedur Pasteur dan Georgiou,1989 yang dibaca dengan TLC scanner dan Prosedur Lee,1990 yang dibaca dengan Elisa Reader pada substrat $\alpha$ naphthyl acetate.....	31
5. Hasil uji perbandingan peningkatanaktifitas enzim <i>esterase</i> non spesifik antara prosedur Pasteur dan Georgiou,1989 yang dibaca dengan TLC scanner dan prosedur Lee,1990 yang dibaca dengan Elisa Reader pada substrat $\beta$ naphthyl acetate .....	32
4. Pola penyebaran status resistensi nyamuk <i>Cx.quinquefasciatus</i> terhadap insektisida malathion di Kabupaten-Sleman dengan uji noda kertas saring, substrat $\alpha$ naphthyl acetate .....	38
5. Pola penyebaran status resistensi nyamuk <i>Cx.quinquefasciatus</i> terhadap insektisida malathion di Kabupaten Sleman dengan uji noda kertas saring, substrat $\beta$ naphthyl acetate .....	41



## DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Hasil analisis One Way ANOVA, tentang status resistensi larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* di Kabupaten Sleman, Juni-Agustus 2000 dengan substrat  $\alpha$  naphthyl acetate.
- Lampiran 2. Hasil analisis One Way ANOVA tentang status resistensi larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* di Kabupaten Sleman, Juni-Agustus 2000 dengan Substrat  $\beta$  naphthyl acetate.
- Lampiran 3. Hasil uji perbandingan berganda *Post Hoc* dari prosedur One Way ANOVA menggunakan *Tukey HSD*,  $\alpha$  naphthyl acetate.
- Lampiran 4. Hasil uji perbandingan berganda *Post Hoc* dari prosedur One Way ANOVA menggunakan *Tukey HSD*,  $\beta$  naphthyl acetate.
- Lampiran 5. Hasil analisis uji regresi linier tentang status resistensi larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* di Kabupaten Sleman tahun 1987-1998, untuk hasil uji resistensi dengan  $\alpha$  naphthyl acetate.
- Lampiran 6. Hasil analisis uji regresi linier tentang status resistensi larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* di Kabupaten Sleman tahun 1987-1998, untuk hasil uji resistensi dengan  $\beta$  naphthyl acetate.
- Lampiran 7. Peta lokasi penelitian di Kabupaten Sleman.
- Lampiran 8. Besar sampel penelitian dari Lemeshow *et al* tahun 1997.
- Lampiran 9. Gambar identifikasi nyamuk *Cx. quinquefasciatus*.
- Lampiran 10. Daftar pelaksanaan pengasapan dengan insektisida malathion di lokasi penelitian.
- Lampiran 11. Gambaran kondisi di tempat pengambilan sampel
- Lampiran 12. Daftar Insektisida dan Fungisida Pertanian yang sering digunakan di Kabupaten Sleman
- Lampiran 13. Hasil uji biokemis dengan prosedur Lee, 1990 sebagai uji pembandingan uji biokemis dengan prosedur Pasteur dan Georgiou, 1989.

## INTISARI

Sejak tahun 1974 insektisida organofosfat khususnya temefos (abate) dan malathion selalu dipakai untuk mengendalikan *Aedes aegypti* stadium larva dan dewasa di Daerah Istimewa Yogyakarta, termasuk Kabupaten Sleman. Dari beberapa kali penelitian yang dilakukan di beberapa lokasi di Kulon Progo, Sleman maupun kota Yogyakarta telah terjadi kecenderungan resistensi larva *Ae.aegypti* terhadap insektisida organofosfat. Karena yang terkena paparan tidak hanya terjadi pada *Ae.aegypti* maka sangat mungkin kecenderungan resistensi terjadi pada serangga atau nyamuk lain. Oleh karena itu penelitian ini berusaha untuk mengetahui kemungkinan adanya resistensi pada *Culex quinquefasciatus* yang mestinya tidak menjadi sasaran pengasapan.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari aktifitas enzim esterase non spesifik pada *Cx.quinquefasciatus* di daerah Sleman.

Penelitian ini adalah eksperimen semu dengan menggunakan *non randomized pretest posttest control group design*. Penelitian ini menggunakan 4 lokasi, tersebar dalam 4 Kecamatan di Kabupaten Sleman. Cara penelitian dengan uji biokemis tentang peningkatan aktifitas enzim *esterase* non spesifik dari larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus*, semuanya koleksi lapangan yang menghidrolisis substrat  $\alpha/\beta$  naphthyl acetate.

Data hasil penelitian yang dianalisis dengan uji *One Way ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna secara statistik antara kenaikan status resistensi larva nyamuk *Cx.quinquefasciatus* di lokasi perlakuan dengan di lokasi untuk kontrol pada  $P < 0,05$ . Uji regresi linier menunjukkan hubungan yang bermakna secara statistik dengan  $P < 0,05$ , baik pada substrat  $\alpha$  maupun  $\beta$  naphthyl acetate dengan koefisien regresi linier pada  $\alpha$  naphthyl acetate 0,588 untuk lamanya dan 0,233 untuk frekuensi/tahun, sedang pada substrat  $\beta$  naphthyl acetate 0,619 untuk lamanya dan 0,277 untuk frekuensi/tahun.

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa larva nyamuk *Cx.quinquefasciatus* di Kabupaten Sleman sudah menunjukkan adanya kecenderungan resistensi terhadap insektisida malathion karena peningkatan aktifitas enzim *esterase* yang menghidrolisis  $\alpha/\beta$  naphthyl acetate.

Kata kunci: *Cx. quinquefasciatus*, resistensi, insektisida, malathion, entomologi

## Abstract

Since 1974 organophosphate (i.e. malathion and temephos) insecticides has been used in Dengue vector control programme specially in Yogyakarta Special Region. Several data indicated that *Ae.aegypti* larvae from Kulon Progo, Sleman and Yogyakarta town has demonstrated resistance tendency to organophosphat insecticides. It is possible that the tendency of resistance also occur in other mosquito.

The objective of the study is to evaluate non specific *esterase* enzym activity of *Cx.quinquefasciatus* larvae at Sleman Regency.

Study was designed as Quasi Experimental with *non randomized pretest posttest control study*, where the area consisted of 4 villages in 4 subdistricts in Sleman Regency. *Cx.quinquefasciatus* larvae collected from 4 villages brought to the laboratory. The non specific *esterase* activity was evaluated using *filter paper spot technique assay*

The result analyzed by *One Way ANOVA* indicated that there was statistically significant different between the resistance tendency of *Cx.quinquefasciatus* mosquito larvae collected from the study areas and control ( $P < 0,05$ ). In linier regrestion analysis, the significant relationship was found statistically between the resistance tendency of *Cx.quinquefasciatus* larvae and the duration (regression coefficient = 0,588) and frecueny of insecticide aplication (regression coefficient = 0,233) at  $\alpha$  naphthyl acetate substrat and the  $\beta$  naphthyl acetate substrate the duration of the insecticide aplication (regression coefficient = 0,619) and frequency per year (regression coefficient = 0,273)

It can be concluded that the *Cx.quinquefasciatus* mosquito larvae collected from the fields in Sleman regency has shown resistance tendency to malathion insecticides due to the increased activity of *esterase*.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Sejak tahun 1974 insektisida kimia organofosfat (OP), khususnya temefos (abate) dan malathion, selalu dipakai untuk memberantas *Aedes aegypti* stadium dewasa dan larva di Daerah Istimewa Yogyakarta, termasuk di Kabupaten Sleman (Mardihusodo, 1999).

Kabupaten Sleman adalah salah satu wilayah di Daerah Istimewa Yogyakarta dengan batas sebelah utara antara lain adalah gunung Merapi, sehingga semakin ke utara cenderung semakin tinggi dari permukaan laut. Beberapa Kecamatan yang berbatasan dengan gunung Merapi (Cangkringan, Turi dan Pakem) endemisitas terhadap penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) sangat rendah, sehingga pelaksanaan pengasapan dengan insektisida malathion juga rendah. Beberapa Kecamatan yang berbatasan dengan kota Yogyakarta (Depok, Mlati) endemisitas terhadap penyakit DBD tinggi, sehingga tindakan pengasapan dengan insektisida malathion juga tinggi..

Tindakan pengasapan dan abatisasi massal memang berhasil menekan populasi *Ae aegypti*, namun hal tersebut tidak mungkin untuk dilaksanakan secara terus menerus, karena : (1) biaya operasional yang mahal (2) penggunaan insektisida dengan dosis yang kurang tepat (*sublethal dosage*) akan mengakibatkan timbulnya resistensi nyamuk terhadap insektisida yang digunakan, dan (3) menyebabkan timbulnya pencemaran lingkungan (Hoedjojo, 1993)

Di beberapa Kelurahan di Kota Yogyakarta ditunjukkan bahwa dengan uji hayati, nyamuk dan larva *Ae aegypti* umumnya masih rentan terhadap malathion dan temefos, tetapi dengan uji biokimia jenis nyamuk tersebut terbukti telah menunjukkan kecenderungan resisten terhadap insektisida OP yang berkaitan dengan adanya peningkatan enzim *esterase* (Mardihusodo, 1995).

Di Kuala Lumpur, Malaysia telah dilaporkan adanya *Ae.aegypti* stadium larva yang resisten terhadap temefos(Lee *et al*,1994). Beberapa tahun kemudian juga dilaporkan bahwa *Ae.aegypti* stadium dewasa telah kebal terhadap malathion (Lee dan Tadano, 1994). Di kota tersebut tidak hanya nyamuk *Ae.aegypti* yang resisten terhadap kedua jenis insektisida OP , tetapi juga jenis nyamuk rumah *Cx. quinquefasciatus* (Lee, 1990). Di kota Yogyakarta perhatian para peneliti terhadap nyamuk *Ae.aegypti* maupun *Ae.albopictus* sudah cukup besar, namun terhadap *Cx. quinquefasciatus* masih kurang.

*Cx.quinquefasciatus* dilaporkan bersifat *anthropophilic* dan *zoophilic*, suka menggigit pada malam hari baik di dalam maupun di luar rumah(Gandahusada *et al*,1993) dan dikenal sebagai vektor filariasis bancrofti maupun *Japanese Encephalitis*(Al-ednego dan Suroso, 1998).

Gangguan akibat gigitan *Cx.quinquefasciatus* inilah yang mendorong manusia untuk menggunakan insektisida kimia yang berdampak negatif berupa pencemaran, resistensi serangga serta pemborosan .

Meskipun sasaran *fogging*/pengasapan dengan malathion untuk mengendalikan vektor DBD nyamuk *Ae.aegypti* dan *Ae.albopictus* di dalam maupun di rumah namun di lapangan kita ketahui bahwa upaya tadi juga

berpengaruh pada populasi nyamuk *Cx. quinquefasciatus* yang juga *endophilic*, sehingga bukan hal yang tidak mungkin bahwa kecenderungan resistensi juga terjadi pada *Cx. quinquefasciatus*.

### B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka permasalahannya adalah sebagai berikut :

1. Sampai seberapa tingkat resistensi larva *Cx. quinquefasciatus* terhadap insektisida malathion yang dikumpulkan di dusun-dusun/lokasi di Kabupaten Sleman berdasarkan aktivitas enzim *esterase* ?
2. Bagaimana hubungan antara kenaikan aktifitas enzim *esterase* non spesifik dengan lama dan frekuensi aplikasi insektisida malathion ?

### C. Keaslian Penelitian

Resistensi nyamuk *Cx. quinquefasciatus* terhadap malathion dan temefos di Malaysia telah dilaporkan disebabkan karena enzim *esterase* (Lee, 1990)

Kecenderungan resistensi nyamuk *Ae. aegypti* terhadap insektisida OP, yang diteliti dengan metode uji noda kertas saring juga telah dilaporkan oleh Mardihusodo (1995).

Sejauh ini penulis belum menemui laporan hasil penelitian deteksi resistensi insektisida OP pada nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dengan uji noda

## D. Manfaat Penelitian

### 1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan akan dapat memberikan sumbangan perkembangan ilmu pengetahuan terutama dalam pengendalian vektor nyamuk yang menggunakan bahan kimia.

### 2. Manfaat Praktis

Bagi peneliti diharapkan akan menambah bekal, pengalaman dan pengetahuan tentang resistensi nyamuk *Cx. quinquefasciatus* terhadap insektisida malathion.

Bagi masyarakat dan pengambil kebijakan, diharapkan mendapatkan masukan informasi baru mengenai kemungkinan adanya kecenderungan resistensi nyamuk *Cx. quinquefasciatus* terhadap insektisida malathion.

## E. Tujuan Penelitian

### 1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui status resistensi larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* karena peningkatan aktifitas enzim *esterase* yang dapat menghidrolisis substrat  $\alpha$  dan  $\beta$  naphthyl acetate.

### 3. Tujuan Khusus

a. Mendeteksi peningkatan aktifitas enzim *esterase* non spesifik pada larva

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Ciri Khas, Perilaku Biologis dan Kepentingan

##### *Culex quinquefasciatus* bagi Kesehatan

#### 1. Klasifikasi

Spesies nyamuk *Cx. quinquefasciatus* Say termasuk genus *Culex*, sub famili *Culicinae*, famili *Culicidae*, Ordo *Diptera* dan Klas *Insekta*.

#### 2. Ciri khas nyamuk *Cx. quinquefasciatus*

##### a. Telur

Telur biasanya berwarna coklat, panjang dan silindris, tidak berpelampung, berada di permukaan air membentuk rakit berjumlah lebih kurang 300 butir telur (Service, 1996).

##### b. Larva

Larva mempunyai sifon yang tumbuh langsing dengan pekten yang berbentuk sempurna dan umumnya lebih dari satu kelompok *hair tufts*. *Hair tufts* terdiri dari rambut pendek, sederhana dan sedikit (Service, 1996).

##### c. Dewasa

Biasanya dada, kaki dan sayap nampak suram, berupa sisik berwarna coklat (Service, 1996). Semua anggota *Culicinae* memiliki scutellum yang trilobi (Soedarto, 1990). Abdomen tertutup oleh sisik-sisik yang lebar mendatar (Service, 1996).

#### 3. Perilaku biologis nyamuk



Kebanyakan spesies *Culex* berhabitat dalam air yang menggenang, misalnya kolam, genangan, selokan, lubang pohon dan sawah. Kebanyakan di tempat itu telur diletakkan. Banyak juga telur yang diletakkan pada penampungan buatan manusia seperti kaleng bekas, wadah air, botol dan tangki penyimpanan. Hanya sedikit yang bertempat perindukan pada lubang pohon dan ketiak daun (Service, 1996).

*Cx. quinquefasciatus* bertempat perindukan pada comberan dengan air keruh dan kolam dekat rumah, berperilaku antropofilik dan zoofilik dan menggigit pada malam hari, tempat istirahat pada benda yang tergantung dan berwarna gelap (Gandahusada *et al*, 1993).

#### 4. Kepentingan nyamuk *Cx. quinquefasciatus* bagi kesehatan

*Cx. quinquefasciatus* dilaporkan berperilaku *anthropophilic* dan *zoophilic* suka menggigit pada malam hari baik di dalam maupun di luar rumah (Gandahusada *et al*, 1993) dan dikenal sebagai vektor filariasis bancrofti dan *Japanese Encephalitis*.

Salah satu strain dari *Wanowrie* (WN) virus telah diisolasi dari *Cx. quinquefasciatus* di distrik Arcot utara (Tamil Nadu) dan Manjri distrik Pune (Reuben *et al*, 1998).

Virus *Chickungunya* (*cit.* Hammon, Rudnick, dan Sather, 1960; Halstead *et al* 1963) dan virus *Eastern Equin Encephalitis* (*cit.* Hammon

## B. Tipe-Tipe dan Mekanisme Resistensi Serangga terhadap Insektisida

### 1. Pengertian

Resistensi insektisida diartikan kemampuan populasi serangga untuk bertahan terhadap pengaruh insektisida yang biasanya memamatkannya (Gandahusada *et al*, 1993).

Suatu arthropoda telah kebal (resisten) terhadap sejenis insektisida bila dengan menggunakan dosis yang biasa digunakan, arthropoda tidak dapat dibunuh. Resistensi dapat terjadi oleh karena berbagai sebab yaitu serangga memiliki sistem enzim yang mampu menetralkan racun (insektisida), selain itu terdapatnya timbunan lemak di dalam tubuh serangga dapat menyerap insektisida yang masuk dan hambatan-hambatan lain yang mencegah penyerapan insektisida ke dalam meningkatkan daya resistansi arthropoda terhadap insektisida (Soedarto, 1989).

### 2. Tipe-tipe resistensi

Resistensi serangga dibagi dalam resistensi bawaan dan resistensi yang didapat (Gandahusada *et al*, 1993)

#### a. Resistensi bawaan.

Dari suatu populasi serangga ada anggota-anggota yang pada dasarnya sudah resisten terhadap suatu insektisida. Sifat ini turun-temurun sehingga selanjutnya terjadi populasi yang resisten seluruhnya. Resistensi bawaan juga terjadi karena perubahan gen yang menyebabkan mutasi. Mutan ini dan keturunannya resisten semuanya.

Menurut mekanismenya resistensi bawaan dibagi dalam resistensi

fisiologik bawaan dan resistensi kelakuan bawaan(Gandahusada *et al*,1993).

Resistensi fisiologik bawaan disebabkan karena faktor-faktor,(1) daya absorpsi insektisida yang sangat lambat, sehingga serangga tidak mati,(2) daya penyimpanan dalam jaringan yang tidak vital, seperti jaringan lunak sehingga alat-alat vital terhindar dari serangan dan tidak mati (3) daya ekskresi insektisida yang cepat, sehingga tidak sampai membunuh serangga (4) detoksikasi oleh enzim, menyebabkan serangga tidak mati(Gandahusada *et al*,1993).

Resistensi kelakuan bawaan disebabkan oleh faktor-faktor (1) perubahan habitat serangga sehingga terhindar dari insektisida, keturunannya mempertahankan habitat yang baru ini, (2) sifat menghindarkan diri dari pengaruh insektisida sehingga tidak terbunuh tanpa mengubah habitat(Gandahusada,1993).

b. Resistensi yang didapati

Dari suatu populasi anggota-anggota yang rentan menyesuaikan diri terhadap pengaruh insektisida, sehingga tidak mati dan membentuk populasi baru yang resisten(Gandahusada *et al*,1993).

Resistensi fisiologik yang didapati disebabkan karena timbulnya toleransi terhadap insektisida karena sebelumnya telah mendapat dosis subletal. Resistensi perilaku disebabkan karena serangga dapat menghindarkan diri dosis subletal insektisida. Resistensi silang (*cross*

*resistance*) terjadi jika suatu spesies serangga resisten terhadap dua atau

lebih insektisida baik kedua insektisida tersebut termasuk dalam suatu golongan (malathion dan parathion) ataupun dalam suatu seri (dieldrin dan klorden). Jika suatu spesies serangga resisten terhadap dua insektisida (kedua insektisida tersebut dalam dua golongan atau dua seri) serangga tersebut dinyatakan mengalami resistensi ganda (*double resistance*)(Gandahusada *et al*,1993).

### 3. Mekanisme resistance

Ada tiga mekanisme dasar resistensi yang diketahui (WHO, 1980)

yaitu :

- a. Detoksikasi toksikan (insektisida) dalam tubuh serangga oleh enzim-enzim *mixed function oxydase* (MFO), *hidrolase*, *esterase* dan *glutathion dependent transferase*.
- b. Penurunan sensitivitas situs sasaran dalam tubuh serangga, berupa insensitivitas syaraf dan insensitivitas enzim *asetilkholinesterase* (Ach E).
- c. Penurunan penetrasi toksikan (insektisida) ke arah situs aktif.

### 4. Faktor-faktor yang bisa mempengaruhi status resistensi serangga terhadap insektisida.

Menurut Georghiou (1979) proses terjadinya penurunan status kerentanan insektisida pada tubuh serangga termasuk nyamuk secara garis besar dapat dipengaruhi tiga faktor yaitu :

a. Faktor genetik.

Diketahui ada sejumlah gen khusus sebagai pengendalian resisten (R-gen), baik yang sifatnya dominan maupun resesif dimana gen tersebut terdapat pada nyamuk dan serangga lainnya

b. Faktor biologis.

Ini meliputi faktor biotik (adanya pergantian generasi, perkawinan monogami dan poligami) dan perilaku serangga (terjadinya migrasi, isolasi, monofagi dan polifagi, adanya kemampuan serangga di luar kebiasaannya dalam melakukan perlindungan terhadap bahaya).

c. Faktor operasional.

Ini meliputi hal-hal berkait dengan bahan lainnya yang dipergunakan dalam pengendalian vektor (jenis dan rumus kimia, kesamaan sifat dan rumus kimia dengan insektisida dan formulasi yang digunakan) dan aplikasi insektisida tersebut di lapangan (cara aplikasi, frekuensi dan lama pemakaian sampai nilai ambang tertentu yang tidak lagi mematikan serangga sasaran).

5. Resistensi nyamuk *Cx. quinquefasciatus* sudah terjadi di berbagai negara, (WHO 1980)

a. Resistensi terhadap malathion sudah terjadi di Australia, Cameron, China, Cuba, Jibouti, Guinea, India, Jepang, Kenya, Madagaskar, Singapura, Srilangka, Suriname, Tanzania, USA, Vietnam.

b. Resistensi terhadap temefos sudah terjadi di Cuba, Jibouti, Guinea,

India Jepang Kenya Liberia Maldivas Tanzania USA

### C. Berbagai Cara Deteksi Resistensi Insektisida terhadap Organofosfat

Untuk deteksi dan penetapan status resistensi nyamuk vektor, sejak lebih dari tiga dasa warsa telah ditetapkan metode uji hayati yang bahan, peralatan dan tata kerjanya telah dibuktikan oleh WHO. Jika semua persyaratan yang dibukukan itu dipenuhi termasuk tentang stadium, jenis kelamin, ukuran dan kondisi fisiologis (misalnya harus hidup dan kenyang darah) serta jumlah yang cukup, maka hasil-hasil uji itu dapat menggambarkan status resistensi nyamuk uji terhadap insektisida uji yang digunakan. Hanya saja hasil ujinya diperoleh setelah sekurang-kurangnya 24 jam perlakuan jangka waktu yang cukup lama untuk pengambilan keputusan cepat pada waktu krisis. Untuk dapat memenuhi persyaratan-persyaratan uji hayati itu diperlukan waktu lama dan fasilitas kolonisasi serangga uji yang memadai, kecuali itu juga banyak tenaga dan pelaksanaan serta interpretasinya sendiri juga sulit (Mardihusodo, 1999)

Cara deteksi resistensi insektisida OP yang akhir-akhir ini dikembangkan adalah cara biokemis, yang diantaranya dapat untuk deteksi peningkatan aktifitas enzim *esterase* (Est), salah satu penyebab resistensi insektisida OP. Metode ini kini sedang giat-giatnya dikembangkan di dunia, yang salah satunya adalah uji noda kertas saring (*filter paper spot technique*, FPST), yang akan diterapkan untuk deteksi larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* hasil koleksi lapangan di Kabupaten Sleman (Mardihusodo, 1995).

### D. Identifikasi larva nyamuk *Cx quinquefasciatus*

Tri Boewono (1999) mengemukakan beberapa spesies nyamuk *Culex* yang ditemukan di beberapa Kabupaten di Jawa Tengah adalah *Cx. quinquefasciatus*

*Cx. quinquefasciatus*, *Cx. gelidus*, *Cx. tritaeniorhynchus*, *Cx. bitaeniorhynchus* dan *Cx. fuscocephalus*.

Berikut ini adalah karakteristik larva beberapa spesies nyamuk *Culex* diatas.

a. *Cx. quinquefasciatus*

Sifon indeks kurang lebih 3 : 1, rambut kepala 5, 6 C dengan 5 cabang atau lebih, bagian tengah sifon sedikit melebar.

b. *Cx. fuscocephalus*

Sifon indeks kurang lebih 5 : 1, rambut kepala 5, 6 C dengan 2 atau 3 cabang.

c. *Cx. bitaeniorhynchus*

Sifon biasanya dengan 4 pasang *subventral tufts*

d. *Cx. gelidus*

Sifon besar dan meluas pada bagian medial, *subventral tufts* terbentuk pada satu garis lurus.

e. *Cx. tritaeniorhynchus*

Sifon panjang berbentuk seperti sanggurdi (*stirrup shaped piece*), rambut pada bagian perut 1 - X dengan 3 atau 4 cabang pendek.

## E. Pelaksanaan Pengendalian Penyakit Demam Berdarah Dengue dengan

### *Fogging/pengasapan*

Di dalam buku petunjuk pelaksanaan proyek peningkatan pelayanan kesehatan tahun 1994/1995 disebutkan ada dua jenis *fogging* untuk

mengendalikan penyakit DBD yaitu *fogging* fokus dan *fogging* sehelum musim

penularan. *Fogging* fokus dilaksanakan pada lokasi terjadinya DBD dalam radius 200 m ( $\pm$  1 RW) dengan kriteria hasil penyelidikan epidemiologi ada tambahan kasus/tersangka DBD atau ada 3 orang atau lebih penderita panas tanpa sebab yang jelas dan ada jentik. *Fogging* sebelum musim penularan dilaksanakan dalam penyemprotan masal disebagian atau seluruh kalurahan endemis DBD.

Insektisida yang digunakan antara lain adalah malathion 95 %. Untuk pelaksanaan *fogging* dengan mesin fog/ULV dosis per hektar (+ 20 rumah) adalah 1 liter untuk 2 siklus.

#### F. Landasan Teori

Salah satu dampak negatif penggunaan bahan kimia untuk mengendalikan vektor adalah resistensi serangga baik yang menjadi sasaran maupun yang tidak menjadi sasaran pengendalian.

Penggunaan insektisida malathion telah digunakan sejak 25 tahun yang lalu untuk mengendalikan vektor nyamuk *Ae.aegypti* di Daerah Istimewa Yogyakarta termasuk Sleman.

Penelitian tentang resistensi *Ae.aegypti* terhadap insektisida malathion sudah sering dilakukan dan ada kecenderungan terjadi resistensi.

Dampak aplikasi insektisida malathion ini sangat luas sehingga sangat mungkin terjadi resistensi serangga yang mestinya tidak dijadikan sasaran pengendalian.

Nyamuk *Cx. quinquefasciatus* adalah salah satu spesies yang mestinya bukan sasaran, namun di Malaysia sudah dilaporkan terjadi resistensi terhadap



organofosfat (malathion). Resistensi nyamuk *Cx. quinquefasciatus* di Malaysia, ada kaitannya dengan peningkatan aktivitas enzim *esterase*.

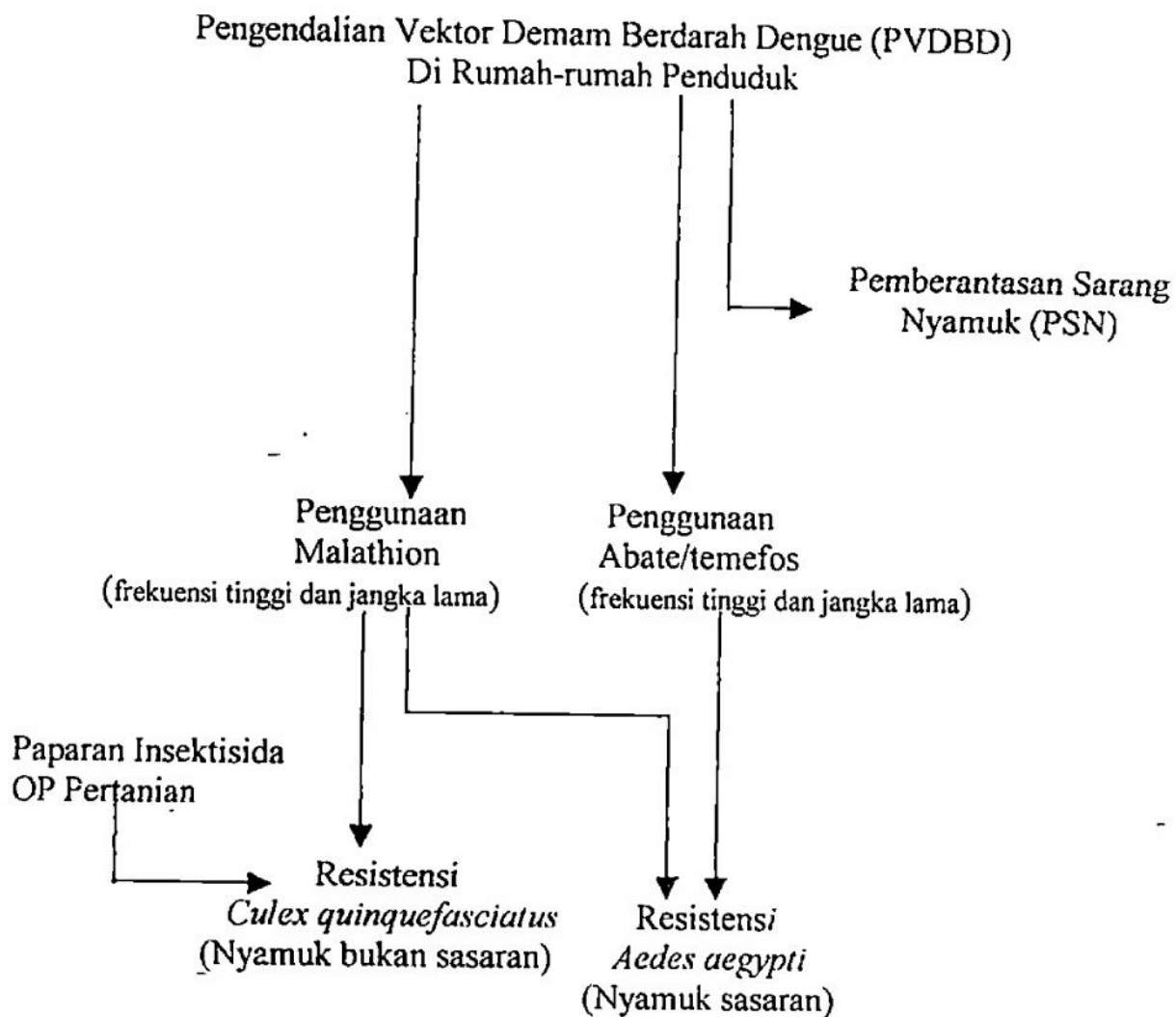
Dampak penggunaan insektisida OP untuk pertanian mungkin juga berpengaruh pada kecenderungan resistensi *Cx. quinquefasciatus* karena paparannya yang luas dan frekuensi tinggi pada daerah hortikultura.

### G. Hipotesis

1. Telah terjadi kecenderungan resistensi larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* di dusun-dusun di Kabupaten Sleman (lokasi penelitian) terhadap insektisida malathion atas dasar peningkatan aktivitas enzim *esterase*.
2. Semakin lama dan semakin tinggi frekuensi aplikasi insektisida malathion, semakin tinggi peningkatan aktifitas enzim *esterase* non spesifik pada larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus*.

### H. Kerangka Pikir

Berdasarkan landasan teori, maka kerangka penelitian ini adalah sebagai berikut :



## I. Rencana Penelitian

### 1. Rancangan Penelitian

Dalam penelitian ini menggunakan rancangan pra pasca perlakuan non random (*non randomized pretest posttest control group design*) termasuk jenis rancangan eksperimental semu, karena pembagian subyek dalam penelitian ini tidak dilakukan secara random (Praktiknya, 1986).

Subyek penelitian adalah sebagai berikut : a. kelompok perlakuan yaitu larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* yang terdapat di 3 dusun di Kabupaten Sleman yang telah terdedah malathion dalam waktu 4-10 tahun dengan frekuensi 5-36 kali pendedahan, b. kelompok kontrol yaitu larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* yang belum terdedah malathion.

### 2. Variabel Penelitian

#### a. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian adalah (1) aplikasi insektisida malathion dari fogging DBD maupun insektisida OP pertanian(2) aktivitas enzim esterase pada nyamuk *Cx. quinquefasciatus* yang terjadi secara alami.

#### b. Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah resistensi nyamuk *Cx. quinquefasciatus* terhadap malathion karena peningkatan enzim esterase.

#### c. Variabel tak terkendali

Variabel tak terkendali adalah beberapa perubahan perancu yang dalam penelitian ini tidak dapat dikendalikan, meliputi biologi, genetik dan kelembaban.

### 3. Batasan Operasional

- a. Deteksi resistensi adalah cara untuk mengetahui kemungkinan adanya resistensi dan atau kecenderungan resistensi pada nyamuk *Cx. quinquefasciatus* terhadap insektisida malathion.
- b. Uji noda kertas saring adalah salah satu metode biokimia yang diterapkan untuk mengetahui peningkatan aktivitas enzim *esterase* dalam tubuh nyamuk *Cx. quinquefasciatus* stadium larva yang menghidrolisis substrat  $\alpha/\beta$  naphthyl acetate dengan reaksi enzimatis pada kertas saring.
- c. Status kerentanan adalah kondisi tubuh nyamuk *Cx. quinquefasciatus* stadium larva, dalam perkembangannya sudah terdedah insektisida malathion dengan tiga kategori ; (1) rentan (2) resisten sedang (3) resisten tinggi.
- d. Rentan (SS) adalah kondisi dalam tubuh nyamuk *Cx. quinquefasciatus* stadium larva dari lokasi tertentu yang masih sangat peka terhadap dosis letal malathion.
- e. Resisten Sedang (RS) adalah kondisi dalam tubuh nyamuk *Cx. quinquefasciatus* stadium larva yang sudah menunjukkan adanya kecenderungan resistensi terhadap malathion.
- f. Resisten Tinggi (RR) adalah kondisi dalam tubuh nyamuk *Cx. quinquefasciatus* stadium larva dari lokasi tertentu yang sudah kebal atau resistensi terhadap malathion.
- g. Malathion adalah jenis insektisida yang digunakan untuk kegiatan pengendalian vektor penyakit D. ... D. ... D.

- h. Frekuensi paparan adalah keseringan dari suatu lokasi/dusun untuk mendapatkan pengasapan dengan insektisida malathion.
- i. Lama paparan adalah jangka waktu pelaksanaan dengan insektisida malathion pada lokasi tersebut.

## BAB III

### CARA PENELITIAN

#### A. Bahan dan Lokasi Penelitian

##### 1. Unit Eksperimen

Unit eksperimen dalam penelitian ini adalah larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dari tiga dusun/lokasi di Kabupaten Sleman yang telah terpapar malathion.

##### 2. Besar Sampel

Besar sampel ditentukan menurut Lemeshow *et al* (1997), dengan penetapan  $P_1 = 0,0025$  ;  $P_2$  lokasi I = 0,05 ;  $P_2$  lokasi II = 0,04 ;  $P_2$  lokasi III = 0,03 ; tingkat kemaknaan = 10 % ; kekuatan = 90 % ; hipotesis alternatif 1 sisi didapatkan besar sampel untuk lokasi I (Condong Catur, Depok) = 107, lokasi II Perum.Minomartani, Ngaglik) = 144, lokasi III (Perum.Gebang, Ngemplak) = 214 dan untuk lokasi kontrol = 107.

##### 3. Reagensia Penelitian

a. Reagensia penelitian untuk penelitian lanjut I terdiri dari :

###### 1) Larutan A yaitu :

- 5 ml  $\alpha$  naphthyl acetate dalam etanol dicampur dengan 95 ml sodium buffer phosphat.
- 5 ml  $\beta$  naphthyl acetate dalam etanol dicampur dengan 95 ml sodium buffer phosphat.

2) Larutan B yaitu 150 mg fast blue B dalam 100 ml aquades.

b. Reagensia untuk penelitian lanjut II.

- 1) Larutan Phosphat Buffer Salin(PBS) 0,02 M, pH=7, digunakan untuk pengenceran homogenat nyamuk
- 2) Larutan substrat berupa  $\alpha$  dan  $\beta$  naphthyl acetate dalam aceton (6 g/l) dicampur dengan 50 ml buffer phosphat (0,02 M; pH=7)
- 3) *Coupling reagent* berupa 150 mg Fast blue B dalam 15 ml akuades dan 35 ml akuades (5 % ; w/v) sodium duodecyl sulphate (sigma)

#### 4. Unit Sampling

Unit sampling pada penelitian ini adalah larva nyamuk *Cx.quinquefasciatus* yang diperoleh dari comberan, parit atau genangan air disekitar rumah penduduk

#### 5. Unit Analisis

Unit analisis penelitian ini adalah dusun yang ditetapkan sebagai lokasi penelitian.

#### 6. Lokasi Penelitian

Lokasi penelitian ini dibagi 2 kelompok, yaitu kelompok perlakuan yang meliputi 3 lokasi, yaitu lokasi I (RW 17, Perum Condong Catur, Depok) dengan 36 kali pelaksanaan *fogging* dengan insektisida malathion, lokasi II (Jl. Lodan, Perum. Minomartani, Ngaglik), dengan 11 kali pelaksanaan *fogging* dengan insektisida malathion dan lokasi III (RW 60, Perum. Gebang Permai, Ngemplak) dengan 5 kali pelaksanaan *fogging* dengan intektisida malathion.

Selain kelompok perlakuan adalah kelompok kontrol (dusun Sebrang Wetan, Wukirsari, Cangkringan) belum pernah dilakukan *fogging* dengan intektisida

malathion. *Fogging* dilaksanakan oleh Dinas Kesehatan Kabupaten Sleman dan atau Puskesmas.

Kriteria pemilihan keompok perlakuan didasarkan pada : (1) telah dilakukan fogging dengan intektisida malathion (2) frekuensi fogging dengan penggunaan insektisida malathion lebih dari 4 kali (3) larva diambil dari comberan dekat rumah penduduk.

### B. Alat-alat Penelitian.

#### 1. Alat Penelitian

Alat penelitian yang dipergunakan pada penelitian ini adalah :

- a. Tabung reaksi 10 ml untuk menggerus larva hingga lumat (homogenat).
- b. *Porcelain plate* yaitu cekungan dari lempeng porselen, sebagai tempat untuk menggerus larva.
- c. Kertas saring whatman No. 42 untuk tempat membuat noda dari homogenat.
- d. Kertas tisu untuk membersihkan cekungan porselen dan menyaring homogenat.
- e. Lampu senter untuk melihat ada tidaknya larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus*
- f. Gayung air untuk mengambil larva dari comberan/parit.
- g. Pipet untuk meletakkan larva pada mikroskop.
- h. Mikroskop untuk mengidentifikasi larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus*





- i. Mikropipet untuk memindahkan homogenat dari lempeng porselin ke kertas saring (membuat noda).
- j. TLC scanner untuk membuat standar interpretasi noda pada kertas saring
- k. *Microplates wells* untuk tempat mencampur homogenat larva *Cx.quinquefasciatus* dengan bahan kimia untuk uji biokemis.
- l. Elisa Reader untuk mengukur intensitas warna secara kuantitatif dengan pembacaan absorbance value(AV) hasil reaksi biokemis.

### C. Jalan Penelitian

1. Persiapan Penelitian
  - a. Survei pendahuluan untuk menentukan lokasi penelitian.
  - b. Koordinasi dengan Puskesmas, Dinas Kesehatan Kabupaten Sleman, Laboratorium Parasitologi dan Laboratorium Ilmu-Hayati UGM.
  - c. Melatih tenaga pengambil larva nyamuk *Cx.quinquefasciatus*.
  - d. Koordinasi dengan Pemda setempat sampai dusun/RW/RT.
2. Pelaksanaan Penelitian
  - a. Pengambilan dan pengumpulan larva nyamuk
    - (1) Larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* diambil dari empat lokasi tempat pengambilan sampel penelitian.
    - (2) Dari comberan/parit larva diambil dengan gayung, larva yang telah ada di gayung dipindah ke dalam jrigen dan atau bekas botol aqua.
    - (3) Setelah terkumpul pada jrigen/bekas botol aqua, larva dibawa ke laboratorium Ilmu hayati UGM untuk diidentifikasi

b. Penelitian lanjut I (sesuai prosedur yang dilakukan oleh Pasteur dan Georghiou, 1989)

- (1). Secara individual larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* instar III awal atau instar IV awal, ditempatkan dalam cekungan-cekungan dari sebuah lempeng proselen, yang kemudian ke dalam masing-masing cekung itu ditambahkan 100  $\mu$ l larutan buffer (0,1 M sodium fosfat) pH 6,5.
- (2). Tiap larva dalam cekungan itu digerus sampai lumat (menjadi homogenat) dengan menggunakan ujung dasar sebuah tabung reaksi 10 ml.
- (3). Tiap kali selesai dengan satu ekor larva ujung dasar tabung itu dibersihkan dengan kertas tisu sebelum digunakan untuk pembuatan homogenat dari sampel larva berikutnya.
- (4). Secarik kertas tisu (1x1 cm) diletakkan diatas cekungan yang berisi homogenat larva nyamuk.
- (5). Dari tiap cekungan itu diisap 2  $\mu$ l homogenat lewat atas kertas tisu menghindari terisapnya fragmen-fragmen homogenat.
- (6). Homogenat (2  $\mu$ l) dipindahkan ke atas seperdelapan lembar kertas saring (Whatman No. 42) berdiameter 11 cm dengan cara sebagai berikut : kertas saring dipegang pada salah satu ujungnya diantara jari telunjuk dan ibu jari (tangan kiri) sedang mikropipet dipegang dengan tangan yang lain (tangan kanan). Homogenat dituang pada

pada kertas saring dengan menyentuhkan ujung pipet secara ringan kepada kertas saring itu.

- (7). Sejumlah 3 noda homogenat dibuat pada tiap carik kertas saring, yang memerlukan waktu sekitar 2 menit. Kertas saring bernoda-noda itu kemudian dicelupkan ke dalam larutan yang mengandung  $\alpha$  naphthyl acetate 2% dalam etanol dan 95 ml sodium buffer fosfat selama 60 detik. Hal yang sama dilakukan dalam larutan yang mengandung  $\beta$  naphthyl acetate.
- (8). Setelah itu kertas saring diletakkan diantara dua lembar kertas tisu. Kertas saring itu kemudian dicelupkan ke dalam larutan B (mengandung 150 mg Fast blue B dalam 100 ml akuades), selama 60 detik.
- (9). Aktifitas enzim *esterase* yang meningkat terlihat dari noda homogenat pada kertas saring yang berubah menjadi warna biru. Reaksi dihentikan dengan memindahkan kertas saring tersebut ke dalam air (akuades) selama 60 detik untuk kemudian dikeringkan dalam temperatur kamar biasa.

Hasil uji resistensi dengan uji noda kertas saring untuk tiap larva nyamuk ditetapkan atas dasar intensitas warna biru pada noda : (1) biru tua, berarti resisten tinggi; (2) biru muda berarti resisten sedang (RS) dan (3) tidak berwarna berarti rentan (SS). Data untuk analisis berupa jumlah (%) subyek

Prosedur ini dilakukan tiga kali untuk masing-masing lokasi pengambilan sampel.

3. Penelitian lanjut II (sesuai dengan prosedur dari Lee, 1990) untuk membuat perbandingan antara hasil bacaan dengan TLC scanner dan bacaan dengan Elysa Reader pada larva yang sama.
  - 1) Larva *Cx. quinquefasciatus* instar III awal atau instar IV awal digerus sampai lumat untuk mendapatkan homogenat, homogenat dilarutkan dalam 0,5 ml larutan buffer fosfat.
  - 2) Homogenat dipindah ke microplate sebanyak 50  $\mu$ l menggunakan mcropipet.
  - 3) Tiap microplate ditambah 50  $\mu$ l bahan substrat(0,5 ml  $\alpha$  atau  $\beta$  naphthyl acetate dalam aceton (6 g/l) dicampur dengan 50 ml fosfat buffer salin 0,02 M; pH=7) terus dibiarkan 60 detik.
  - 4) Tiap microplate ditambah 50  $\mu$ l bahan *coupling reagent*, dibiarkan 10 menit, warna merah yang mula-mula timbul berubah menjadi biru.
  - 5) - Reaksi dihentikan dengan penambahan 50  $\mu$ l asam asetat 10 % pada tiap microplate yang berisi homogenat.
  - 6) Intensitas warna akhir produk reaksi menggambarkan aktifitas enzim *esterase* non spesifik dan tingkatannya dapat dibedakan secara visual

#### D. Interpretasi data

Hasil akhir uji laboratorium ialah berupa noda-noda pada kertas saring

substrat  $\alpha$  naphthyl acetate dan tiga buah noda pada kertas saring dengan substrat  $\beta$  naphthyl acetate.

Dari sekian banyak variasi intensitas warna yang muncul dilakukan standarisasi untuk menentukan hasil akhir yaitu resisten tinggi, resisten sedang atau rentan.

Standarisasi dilakukan dengan membuat urutan warna beserta skornya. Skor intensitas warna diukur dengan TLC scanner di Laboratorium Analisa Kimia dan Fisika Pusat (LAKFIP).

Pembacaan dengan TLC (Thin Layer Chromatography) scanner dilakukan dengan panjang gelombang ( $\alpha$ ) = 345 nm, skor yang didapat ditentukan oleh intensitas atau absorpsi warna, tidak dipengaruhi oleh luas noda.

Skor standar hasil bacaan dengan TLC scanner dapat dilihat pada tabel 1 dan tabel 2.

Tabel 1. Skor standar untuk hasil penelitian dengan substrat  $\alpha$  naphthyl acetate.

No	Skor	Status resistensi
1 s/d 3	0,054 – 0,097	SS (rentan)
4 s/d 7	0,108 – 0,168	RS (resisten sedang)
8 s/d 10	0,222 – 0,272	RR (resisten tinggi)

Tabel 2. Skor standar untuk hasil penelitian dengan substrat  $\beta$  naphthyl acetate










No	Skor	Status resistensi
1 s/d 3	0,015 – 0,035	SS (rentan)
4 s/d 7	0,064 – 0,114	RS (resisten sedang)
8 s/d 10	0,145 – 0,201	RR (resisten tinggi)

Skor standar dalam tabel 1 dan tabel 2 dengan noda pada kertas saring dibuat urutan sesuai skor dan warna (gambar 2 dan gambar 3). Urutan tersebut digunakan untuk menginterpretasikan noda kertas saring hasil penelitian dari semua lokasi.










Skor standar pada tabel 1 dan tabel 2 dilakukan perbandingan dengan cara melakukan penelitian laboratorium menggunakan bahan larva yang sama diteliti dengan 2 teknik. Teknik pertama sesuai prosedur dari Pasteur dan Georgiou, 1989, hasil akhir berupa noda kertas saring yang dibaca dengan TLC scanner. Teknik kedua sesuai prosedur dari Lee, 1990.

Hasil uji (prosedur Lee, 1990) berupa intensitas warna pada microplate diukur secara kuantitatif berdasar kriteria Lee, 1990 dengan pembacaan absorbance value (AV) menggunakan Elisa Reader pada  $\alpha = 450$  nm. Kriteria tersebut ialah AV < 0,700 rentan (SS), AV = 0,700 – 0,900 resisten sedang (RS), AV > 0,900 resisten tinggi (RR).

Hasil selanjutnya perbandingan antara kedua teknik dapat dilihat pada

	<u>TLC Scanner</u>	<u>Elysa Reader</u>
	0,297	1,409
	0,290	1,050
	0,274	0,948
	0,129	0,888
	0,116	0,896
	0,111	0,882
	0,077	0,465
	0,064	0,312
	0,062	0,380

Gambar 4. Hasil uji perbandingan peningkatan aktivitas enzim *esterase* non spesifik antara prosedur Pasteur dan Georgiou, 1989 yang dibaca dengan TLC Scanner dan prosedur Lee, 1990 yang dibaca dengan Elysa Reader pada substrat *α-naphthyl acetate*.

	<u>TLC Scanner</u>	<u>Elisa Reader</u>
	0,208	1,459
	0,173	0,914
	0,170	1,104
	0,098	0,782
	0,098	0,732
	0,076	0,768
	0,029	0,308
	0,023	0,298
	-0,004	0,278

Gambar 5 Hasil uji perbandingan peningkatan aktivitas enzim *esterase* non spesifik antara prosedur Pasteur dan Georgiou, 1989 yang dibaca dengan TLC Scanner dan prosedur Lee, 1990 yang dibaca dengan Elisa Reader pada substrat  $\beta$  naphthyl acetate



### E. Analisis Hasil Penelitian

1. Untuk menetapkan perbedaan kecenderungan resistensi larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* terhadap malathion antara kelompok perlakuan (terkena paparan) dengan kelompok kontrol (tidak pernah terkena paparan malathion), dan antar kelompok perlakuan maka dilakukan uji statistik One Way ANOVA, bila ada perbedaan yang bermakna dilanjutkan dengan uji perbandingan berganda *Post Hoc* dari prosedur One Way ANOVA menggunakan uji *Tukey HSD* pada program SPSS for window release 10.
2. Untuk melihat adanya hubungan antara kecenderungan resisten larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dari lokasi penelitian terhadap insektisida malathion dengan lama paparan 4 – 10 tahun dengan frekuensi fogging 5 – 36 kali (3,6 kali/tahun) maka dilakukan uji statistik regresi linier pada program SPSS for windows release 10.

### F. Kesulitan dan Keterbatasan Penelitian

#### 1. Kesulitan Penelitian

- a. Kesulitan dalam menentukan lokasi penelitian

Hal ini karena informasi rinci masalah pelaksanaan pengasapan adanya di Puskesmas, pada hal tidak semua Puskesmas menjalani administrasi dengan baik, pemecahannya adalah dengan melacak informasi dari Puskesmas ke Puskesmas sampai ditemukan informasi yang memadai.

- b. Kesulitan dalam melakukan interpretasi data

Hal ini karena noda dalam kertas saring whatman tidak dapat dibaca dengan densitometer, pemecahannya adalah dibaca dengan TLC scanner. Permasalahan lain timbul karena beayanya sangat mahal (Rp.10.000,-/noda). Untuk mengatasi hal itu maka tidak semua noda dibaca dengan TLC scanner, pembacaan dengan TLC scanner dilakukan untuk membuat skor standar dan urutan intensitas/absorpsi warna yang selanjutnya dibaca secara visual.

## 2. Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan dalam penelitian ini dari ketiga faktor yang berpengaruh terhadap resistensi (genetik, biologi, operasional), hanya faktor operasional yang dapat dikendalikan yaitu dalam hal frekuensi dan lama paparan. Untuk

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil Penelitian

##### 1. Hasil uji resistensi dengan substrat $\alpha$ naphthyl acetate

Intensitas warna pada noda kertas saring adalah hasil reaksi aktifitas enzim *esterase* non spesifik dari larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* yang diamati secara visual. Hal tersebut menunjukkan kadar resistensi nyamuk *Cx. quinquefasciatus* hasil uji biokimia yang bersifat kualitatif.

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* di Kabupaten Sleman memiliki rata-rata resisten tinggi (RR) 7,05% resisten sedang (RS) 23,33% dan status rentan (SS) 68,91%. Data selengkapnya ada pada tabel 3.

Proporsi larva nyamuk uji dengan status resisten tinggi (RR) tertinggi di Condong Catur, Depok yaitu 13,40% terendah di perumahan Gebang, Ngemplak 3,11%, sedangkan di Wukirsari, Cangkringan, yang menjadi lokasi untuk kontrol, karena selama ini belum pernah dilakukan pengasapan dengan insektisida malathion ternyata proporsi resisten tinggi (RR) mencapai 4,05% lebih tinggi dibanding perumahan Gebang.

Proporsi larva nyamuk uji dengan resisten sedang (RS) tertinggi di Condong Catur, Depok yaitu 29,60% terendah di perumahan Gebang, Ngemplak 16,34%. Hasil di luar dugaan ditemui di dusun Sebrang Wetan, Wukirsari, Cangkringan yaitu 29,99%.

Tabel 3. Uji resistensi *Culex quinquefasciatus* terhadap insektisida malathion di sejumlah lokasi di Kabupaten Sleman dengan tehnik noda kertas saring, substrat  $\alpha$  naphthyl acetate. Dilakukan pada bulan Juni s/d Agustus 2000.

Pengambilan sampel ke\*

Lokasi I**	Status Resistensi	I		II		III		Rata-rata	
		f	%	f	%	f	%	f	%
Condong Catur	RR	15	14,02	13	12,15	15	14,02	14,33	13,40
Depok	RS	28	26,17	36	33,65	31	28,97	31,67	29,60
N = 107	SS	64	59,81	58	54,2	61	57,01	61	57,01
Lokasi II***									
		f	%	f	%	f	%	f	%
Minomartani,	RR	13	9,03	15	10,42	5	3,47	11	7,64
Ngaglik	RS	35	24,3	30	20,83	24	16,67	29,67	20,6
N = 144	SS	96	66,67	99	68,75	115	79,86	103,33	71,76
Lokasi III****									
		f	%	f	%	f	%	f	%
Perum Gebang	RR	2	0,93	7	3,27	11	5,14	6,67	3,11
Ngemplak	RS	21	9,81	32	14,95	53	24,77	35,33	16,34
N = 214	SS	191	89,25	175	81,78	150	70,56	172	80,53
Lokasi IV*****									
		f	%	f	%	f	%	f	%
Wukir sari	RR	1	0,93	5	4,67	7	6,54	4,33	4,05
Cangkringan	RS	33	30,84	29	27,1	33	30,84	31,67	29,59
N = 107	SS	73	68,22	73	68,22	67	62,6	71	66,35

\* Dilakukan dalam selang waktu 2 minggu

\*\* Telah dilakukan *fogging* dengan insektisida malathion sebanyak 36 kali, selama 10 tahun (1987-1996).

\*\*\* Telah dilakukan *fogging* dengan insektisida malathion sebanyak 11 kali, selama 5 tahun (1995-1999)

\*\*\*\* Telah dilakukan *fogging* dengan insektisida malathion sebanyak 5 kali, selama 4 tahun (1995-1998)

\*\*\*\*\* Belum pernah dilakukan *fogging* dengan insektisida malathion

Proporsi larva nyamuk dengan status rentan (SS) terendah di Condong Catur, Depok yaitu 57,01% tertinggi di perumahan Gebang, Ngemplak 80,53%.

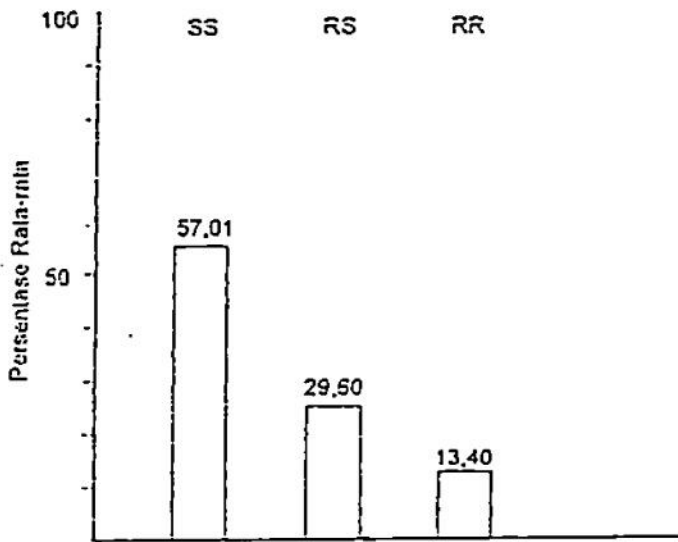
Pola penyebaran status resistensi larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* terhadap insektisida malathion dapat dilihat pada gambar 6.

Hasil uji biokimia (tabel 3) dianalisis dengan uji statistik One Way ANOVA, hasilnya menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna secara statistik antara status resistensi larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* yang sudah ada kenaikan status resistensinya dari lokasi perlakuan dan lokasi kontrol ( $P < 0,05$ ), kemudian analisis dilanjutkan dengan perbandingan berganda *Post Hoc* dari prosedur One Way ANOVA menggunakan *Tukey HSD* ( $p=0,000$  ;lampiran 1 dan 3)

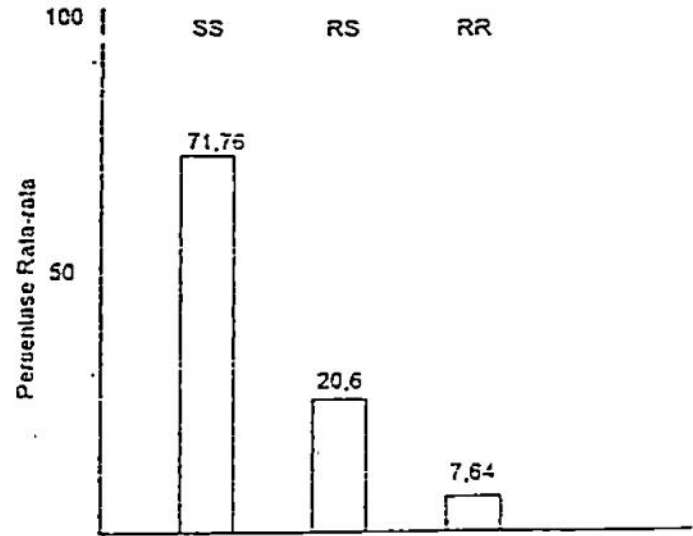
## 2. Hasil uji resistensi dengan substrat $\beta$ naphthyl acetate

Dari hasil penelitian menunjukkan larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* di Kabupaten Sleman memiliki rata-rata status resistensi sebagai berikut : resisten tinggi (RR) 6,32%, resisten sedang (RS) 18,75% dan rentan (SS) 75,14%. Data selengkapnya ada pada tabel 4.

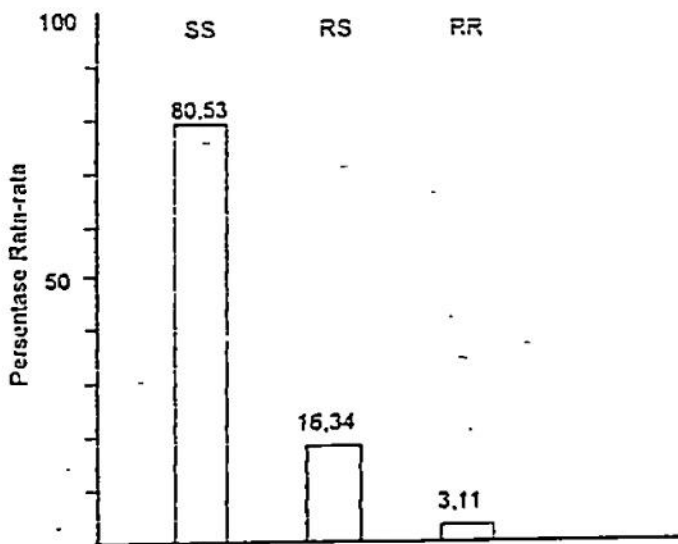
Proporsi larva nyamuk uji dengan status resisten tinggi (RR) tertinggi di Condong Catur, Depok yaitu 10,58%, terendah di perumahan Gebang yaitu 1,87%, sedangkan di Sebrang Wetan, Wukirsari, Cangkringan mencapai 4,05%, ini adalah hasil di luar dugaan karena Cangkringan adalah lokasi untuk kontrol



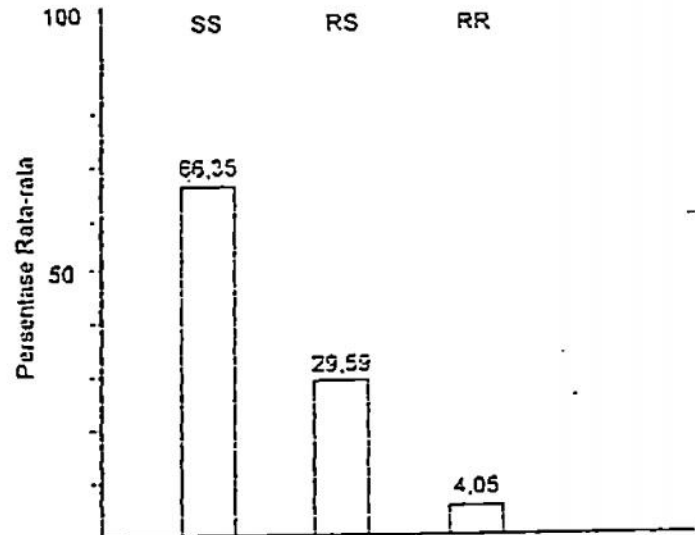
Status resistensi larva *Cx. quinquefasciatus*  
Di Condong Catur Depok



Status resistensi larva *Cx. quinquefasciatus*  
Perum. Minomartani Ngaglik



Status resistensi larva *Cx. quinquefasciatus*  
Di Perum Gebang, Ngemplak



Status resistensi larva *Cx. quinquefasciatus*  
Di Dusun Sebrang Watan Wukirsari Cangkringan

Gambar 6 Pola penyebaran status resistensi larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* terhadap insektisida malathion di Kabupaten Sleman dengan uji noda

Tabel 4. Uji resistensi *Culex quinquefasciatus* terhadap insektisida malathion di sejumlah lokasi di Kabupaten Sleman dengan tehnik noda kertas saring, dengan substrat  $\beta$ -naphthyl acetate, dilakukan pada bulan Juni s/d Agustus 2000.

Pengambilan sampel ke \*

Lokasi I**	Status Resistensi	I		II		III		Rata-rata	
		f	%	f	%	f	%	f	%
Condong Catur	RR	12	11,2	10	9,35	12	11,2	11,33	10,58
Depok	RS	18	16,8	25	23,36	27	25,2	23,33	21,79
N = 107	SS	77	71,6	72	67,3	69	65,54	73	69,66
Lokasi II***		f	%	f	%	f	%	f	%
Minomartani	RR	15	10,4	15	10,4	8	5,56	12,67	8,79
Ngaglik	RS	31	21,53	39	27,08	29	20,14	33	21,76
N = 144	SS	98	68,06	90	62,5	107	74,3	98,33	68,29
Lokasi III****		f	%	f	%	f	%	f	%
Perum Gebang	RR	3	1,4	3	1,4	6	2,8	4	1,87
Ngemplak	RS	16	7,48	18	8,4	30	14,01	21,33	9,96
N=214	SS	195	91,12	193	90,19	178	83,18	188,67	88,16
Lokasi IV*****		f	%	f	%	f	%	f	%
Wukir sari	RR	3	2,8	5	4,67	5	4,67	4,33	4,05
Dangkringan	RS	25	23,36	23	21,5	21	19,63	23	21,5
N= 107	SS	79	73,8	79	73,8	81	75,7	79,67	74,43

\* Dilakukan dalam selang waktu 2 minggu

\*\* Telah dilakukan *fogging* dengan insektisida malathion sebanyak 36 kali, selama 10 tahun (1987-1996)

\*\*\* Telah dilakukan *fogging* dengan insektisida malathion sebanyak 11 kali, selama 5 tahun (1995-1999)

\*\*\*\* Telah dilakukan *fogging* dengan insektisida malathion sebanyak 5 kali, selama 4 tahun (1995-1998)

\*\*\*\*\* Belum pernah dilakukan *fogging* dengan insektisida malathion

( f = frekuensi ; N = jumlah sampel )

Proporsi larva nyamuk uji dengan status resisten sedang (RS) tertinggi di Condong Catur, Depok yaitu 21,79% terendah di perumahan Gebang, Ngemplak yaitu 9,96% sedangkan di Wukirsari, Cangkringan adalah 21,50%.

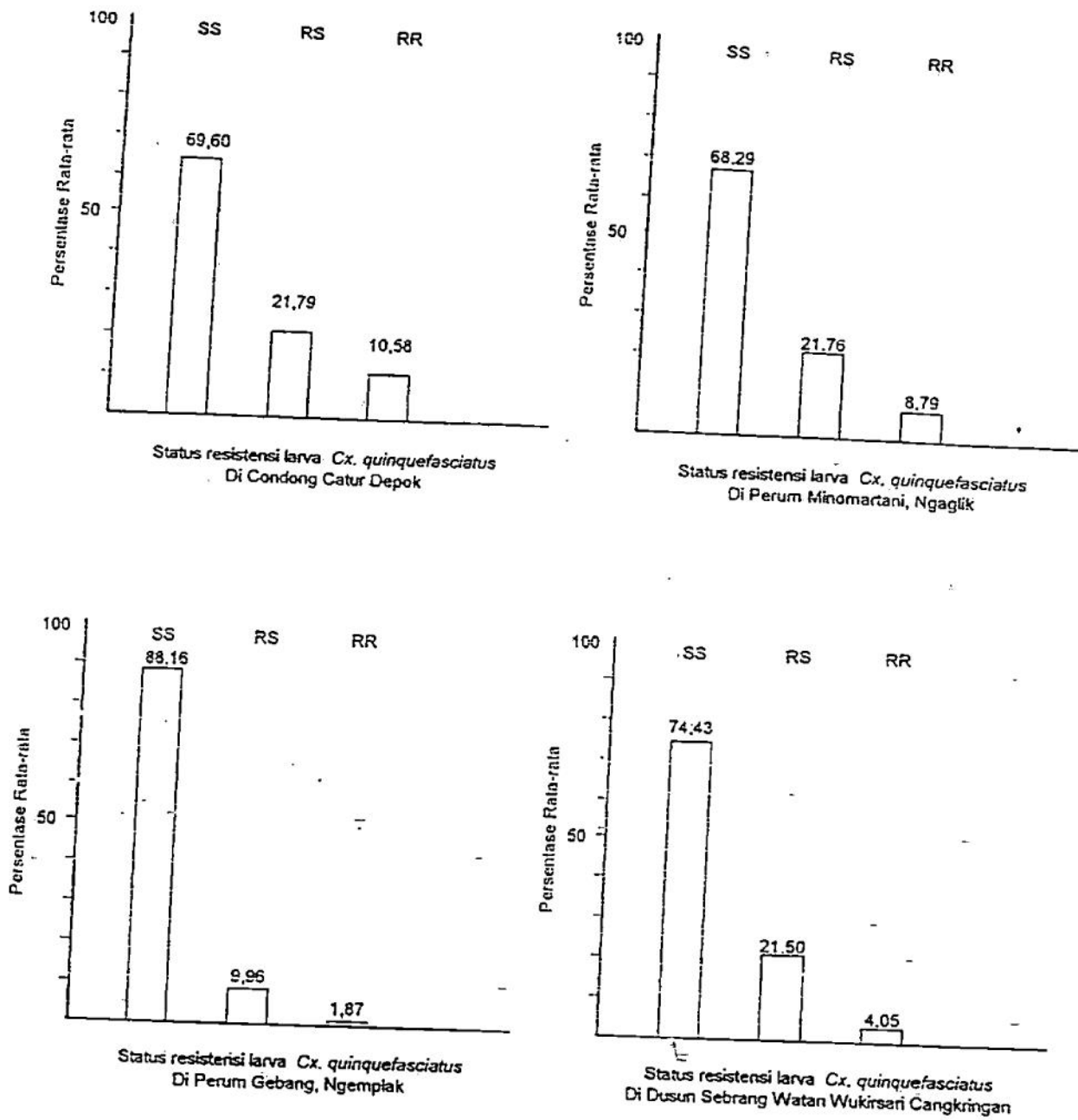
Proporsi larva nyamuk uji dengan status resistensi rentan (SS) terendah di Condong Catur, Depok 57,01% tertinggi di perumahan Gebang, Ngemplak 80,53% sedangkan di Wukirsari, Cangkringan 66,35%.

Pola penyebaran status resistensi larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* terhadap insektisida malathion dapat dilihat pada gambar 7.

Hasil uji biokimia (tabel 4) dianalisis dengan uji statistik One Way ANOVA. Hasilnya menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna secara statistik antara status resistensi larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* yang sudah ada kenaikan status resistensinya dari lokasi perlakuan dengan lokasi kontrol ( $P < 0,05$ ), kemudian analisis dilanjutkan dengan uji perbandingan-berganda *Post Hoc* dari prosedur One Way ANOVA menggunakan *Tukey HSD* ( $p=0,000$  ; lampiran 2 dan 4)

Untuk melihat adanya hubungan antara kenaikan status resistensi pada larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* terhadap insektisida malathion dengan lamanya (4-10 tahun) dan frekuensi pengasapan dengan insektisida malathion 5-36 kali (3,6 kali/tahun) dilakukan analisis regresi linier. Dari hasil penelitian dengan status resisten tinggi (RR) didapatkan hasil adanya hubungan yang bermakna secara statistik ( $P < 0,05$ ), dengan koefisien regresi linier 0,619 untuk lamanya dan 0,277 untuk frekuensi/tahun ( $p=0,000$  ; lampiran 6)





Gambar 7 Pola penyebaran status resistensi larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* terhadap insektisida malathion di Kabupaten Sleman dengan uji noda kertas saring, substrat  $\beta$  naphthyl acetate

## B. Pembahasan Hasil Penelitian

Kabupaten Sleman adalah salah satu wilayah di Daerah Istimewa Yogyakarta dengan batas sebelah utara Gunung Merapi sehingga semakin ke utara cenderung semakin tinggi dari permukaan laut. Kecamatan Cangkringan termasuk salah satu Kecamatan yang berbatasan dengan Gunung Merapi. Batas sebelah selatan adalah kota Yogyakarta. Kecamatan Depok termasuk salah satu Kecamatan yang berbatasan dengan kota Yogyakarta. Dari data di Dinas Kesehatan Kabupaten Sleman diketahui bahwa kasus penyakit DBD tinggi di daerah Depok dan sangat rendah di Kecamatan Cangkringan, sehingga frekuensi pelaksanaan pengasapan tinggi di Depok dan sangat rendah di Cangkringan.

Sejak tahun 1974 insektisida kimia organofosfat (OP), khususnya temefos (abate) dan malathion, selalu dipakai untuk mengendalikan *Ae. aegypti* stadium larva dan dewasa di Daerah Istimewa Yogyakarta (Mardihusodo, 1999), penggunaan semakin intensif setelah ada larangan penggunaan DDT pada tahun 1986.

Hoedojo (1993) mengungkapkan bahwa tindakan pengasapan dan abatisasi masal memang berhasil menekan populasi *Ae. aegypti* namun hal tersebut tidak mungkin dilaksanakan terus-menerus antara lain karena timbulnya resistensi nyamuk terhadap insektisida yang digunakan.

Resistensi tersebut tidak hanya terjadi pada serangga sasaran, tetapi terjadi juga pada non sasaran. Lee (1990) melaporkan resistensi nyamuk *Cx. quinquefasciatus* terhadap malathion di Kuala Lumpur, Malaysia.

Penelitian ini menggunakan uji biokimia, dengan obyek penelitiannya berupa larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* yang diambil dari 4 lokasi di Kabupaten Sleman dengan frekuensi pengasapan dan lama paparan berbeda-beda.

Hasil uji biokimia dengan substrat  $\alpha$  naphthyl acetate (tabel 3) dianalisis dengan uji statistik One Way ANOVA hasilnya menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna secara statistik ( $P < 0,05$ ) antara larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dari lokasi perlakuan dengan lokasi kontrol, kemudian analisis dilanjutkan dengan uji perbandingan berganda *Post Hoc* dari prosedur One Way ANOVA menggunakan *TukeyHSD*. Hasil analisis menunjukkan bahwa tingkat resistensi larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dari Condong Catur, Depok berbeda secara bermakna dengan larva dari perumahan Gebang ( $p=0,000$  ; lampiran 1 dan 3)

Hasil uji biokimia dengan substrat  $\beta$  naphthyl acetate (tabel 4) dianalisis dengan uji statistik One Way ANOVA menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna secara statistik antara status resistensi larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dari lokasi perlakuan dengan lokasi kontrol ( $P < 0,05$ ), kemudian analisis dilanjutkan dengan uji perbandingan berganda *Post Hoc* dari prosedur One Way ANOVA menggunakan *Tukey HSD*. Hasil analisis diperoleh bahwa status resistensi larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dari Condong Catur, Depok berbeda secara bermakna dengan status resistensi larva *Cx. quinquefasciatus* dari perumahan Gebang, Ngemplak, sedangkan status resistensi larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dari perumahan Gebang, Ngemplak berbeda

secara bermakna dengan status resistensi larva *Cx. quinquefasciatus* dari perumahan Minomartani, Ngaglik ( $p=0,000$  ; lampiran 2 dan 4).

Dari ulasan itu dapat disimpulkan bahwa pengajuan hipotesis penelitian (no. 1) diterima, karena larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* di Kabupaten Sleman (lokasi penelitian) sudah menunjukkan kenaikan status resistensinya terhadap insektisida malathion.

Untuk melihat adanya hubungan antara kecenderungan resistensi larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dengan frekuensi pengasapan dengan insektisida malathion maka dilakukan analisis uji regresi linier. Hasilnya didapat adanya hubungan yang bermakna secara statistik ( $P < 0,05$ ) baik pada substrat  $\alpha$  naphthyl acetate maupun  $\beta$  naphthyl acetate, dengan koefisien regresi linier pada substrat  $\alpha$  naphthyl acetate 0,588 untuk lamanya dan 0,233 untuk frekuensi/tahun, sedang pada substrat  $\beta$  naphthyl acetate 0,619 untuk lamanya dan 0,277 untuk frekuensi/tahun. Dengan demikian pengajuan hipotesis penelitian (no. 2) diterima ( $p=0,000$  ; lampiran 5 dan 6).

### **C. Ulasan Tentang Pemakaian Insektisida Pertanian di Kabupaten Sleman**

Sebagian besar masyarakat Sleman bermata pencaharian sebagai petani, tanaman yang mereka andalkan adalah padi, kecuali Kecamatan Cangkringan yang juga mengandalkan hortikultura terutama cabe, buncis dan kacang panjang.

Penyemprotan insektisida untuk tanaman padi hanya dilakukan ketika padi akan terserang hama terutama wereng sollet sehingga frekuensinya sangat

jarang. Setelah terjadi krisis ekonomi tahun 1998 insektisida hampir tidak lagi digunakan untuk mengendalikan hama padi karena secara ekonomis tidak menguntungkan. Insektisida yang sering digunakan untuk memberantas hama padi ialah *Darmabas 500 EC*, *Baycarb 500*, *Bassa 50 EC*, *Kiltop 50 EC*, semuanya punya bahan aktif BMPC(fenubucarb) termasuk golongan karbamat.

#### **D.Ulasan tentang Kondisi di Lokasi Pengambilan Sampel untuk**

##### **Kontrol**

Lokasi yang dijadikan tempat pengambilan sampel untuk kontrol ialah dusun Sebrang Wetan, Kelurahan Wukirsari, Kecamatan Cangkringan. Dusun ini dijadikan tempat pengambilan sampel untuk kontrol karena ini belum pernah diadakan pengasapan dengan menggunakan malathion, selain itu juga karena di daerah Cangkringan relatif sangat sedikit terjadi kasus Demam Berdarah Dengue sehingga pelaksanaan pengasapan di dusun lainpun jarang dilakukan.

Dari riwayat pelaksanaan pengasapan itu diperkirakan bahwa status resistensi resisten tinggi (RR), dan resisten sedang (RS) akan bernilai 0 atau sangat minimal dan lebih kecil bila dibandingkan dengan lokasi sampel yang lain, terutama di perumahan Gebang yang frekuensi pengasapannya paling kecil. namun ternyata tidak demikian, pada uji resistensi substrat  $\alpha$  naphthyl acetate didapatkan hasil resisten tinggi (RR) di perumahan Gebang (3,11%) sedang di Wukirsari Cangkringan (4,05%), untuk resisten sedang (RS) di perumahan Gebang (16,34%) sedang di Wukirsari Cangkringan (29,595), untuk status rentan (SS) di perumahan Gebang (80,53%) sedang di Wukirsari, Cangkringan (66,35%). Pada uji resistensi dengan substrat  $\beta$  naphthyl acetate didapatkan hasil

resisten tinggi (RR) di perumahan Gebang (1,87%) sedang di Wukirsari, Cangkringan (4,05%), untuk resisten sedang (RS) di perumahan Gebang (9,96%) sedang di Wukirsari, Cangkringan (21,50%), rentan (SS) di perumahan Gebang (88,16%) sedang di Wukirsari Cangkringan (74,43%).

Kemungkinan penyebab resistensi sebagian larva uji di Kecamatan Cangkringan adalah sebagai berikut :

#### 1. Paparan Insektisida di Sektor Kesehatan.

Insektisida yang mungkin dalam hal ini antara lain adalah malathion dan temefos, namun karena belum ada riwayat pengasapan maka kemungkinan ini sangat kecil. selain itu karena tidak pernah didapati adanya kasus Demam Berdarah Dengue dari dusun ini penggunaan temefos juga tidak pernah digunakan.

#### 2. Paparan Insektisida Pertanian.

Dusun sebrang Wetan Kelurahan Wukirsari Kecamatan Cangkringan terletak kurang lebih 4 km dari Ibu Kota Kecamatan, mata pencaharian penduduk sebagian besar adalah petani. Jenis tanaman pertanian yang paling banyak adalah sayuran, terutama cabe, buncis, kacang panjang dan sawi. Cangkringan adalah prosedur cabe tertinggi di Kabupaten Sleman dengan luas areal tanaman cabe lebih dari 30 Ha. Untuk mendapatkan hasil maupun anti fngsi. Sebagai gambaran untuk tanaman cabe, pada masa vegetatif atau masa pra produksi lebih kurang (90 hari) penyemprotan dengan insektisida yang biasanya dicampur dengan fungisida dilaksanakan lebih kurang 7 hari sekali, sehingga total 13 kali itu hanya untuk satu petak sawah yang tidak

berdampingan dengan tanaman yang berpenyakit perlu dilakukan penyemprotan tiga hari sekali. Frekuensi pengendalian hama selain tanaman cabe tidak jauh berbeda dengan cabe.

Pengaruh penyemprotan bisa mencapai lebih dari 100 meter bahkan bisa mencapai 1 km, tergantung kekuatan angin yang berhembus ketika penyemprotan, sehingga sangat mungkin paparan penyemprotan hama di sawah akan berpengaruh pada nyamuk dewasa di rumah dan pekarangan, termasuk nyamuk *Cx. quinquefasciatus*. Hal ini ketika berlangsung terus-menerus dalam waktu lama dan frekuensi tinggi sangat mungkin menjadi penyebab utama resistensi nyamuk *Cx. quinquefasciatus*.

Dalam lima tahun terakhir insektisida pertanian yang sering digunakan ialah *Curacron*, *Matador*, *Dencis*, *Thiadan* dan *Cofidar*. Sebelumnya yang banyak digunakan adalah *Diazenon*. Gungsiada saat ini yang sering digunakan ialah *Dextane M. 45*, *Antracol*, *Manzate* dan *Benlite*.

*Curacron* dan *Diazenon* adalah golongan organofosfat, sehingga sangat mungkin inilah insektisida pertanian yang menyebabkan kecenderungan resistensi pada *Cx. quinquefasciatus* di Cangkringan.

Kecenderungan resistensi tersebut terjadi kemungkinan selain karena paparan insektisida di udara juga ketika insektisida tersebut jatuh ke tanah terus tersebar ke lingkungan sekitarnya akhirnya sampai ke comberan/parit atau tempat lain yang menjadi tempat perindukan *Cx. quinquefasciatus*.

Tingkat perekonomian penduduk dusun Sebrang Wetan, Wukirsari cangkringan sebagian besar adalah menengah ke bawah, sehingga penggunaan insektisida rumah tangga untuk pengendalian nyamuk sangat terbatas, sehingga pengaruhnya pada resistensi nyamukpun sangat terbatas.

#### 4. Faktor Genetik.

Faktor genetik sebagai penyebab resistensi larva nyamuk uji karena adanya sejumlah gen khusus sebagai pengendali resistensi (R-gen) baik yang sifatnya dominan maupun resesif dimana gen tersebut terdapat pada nyamuk, namun sulit untuk mengetahui keberadaan gen khusus sebagian pengendali resistensi di lokasi ini sehingga sulit juga disimpulkan adanya gen khusus ini.

#### 5. Faktor Migrasi

Adanya migrasi nyamuk *Cx. quinquefasciatus* yang membawa gen khusus sebagai pengendali resisten (R-gen) dari dusun lain ke dusun lokasi kontrol bisa juga menjadi penyebab resistensi larva nyamuk di lokasi kontrol, meskipun hal ini sulit dilacak kepastian larva nyamuk dari lokasi setempat atau nyamuk migrasi, andaikan larva uji nyamuk migrasi, sulit juga dipastikan membawa gen khusus pengendali resisten atau tidak



## BAB V

### SIMPULAN DAN SARAN

#### A. Simpulan

Dari hasil penelitian tentang status resistensi larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* terhadap insektisida malathion secara biokemis di Kabupaten Sleman dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* di Kabupaten Sleman (lokasi penelitian) telah menunjukkan adanya kecenderungan resistensi terhadap insektisida malathion dengan adanya peningkatan aktifitas enzim *esterase* non spesifik yang menghidrolisis substrat  $\alpha$  naphthyl acetate dan  $\beta$  naphthyl acetate.
2. Semakin lama dan semakin tinggi frekuensi paparan insektisida malathion semakin tinggi kenaikan aktifitas enzim *esterase* non spesifik yang menunjukkan semakin tinggi kecenderungan resistensi larva *Cx. quinquefasciatus* terhadap insektisida malathion di Kabupaten Sleman, dimana lokasi yang terjadi paparan selama 10 tahun dan frekuensi 36 kali (3,6 kali/tahun) cenderung mengalami kenaikan status resistensi sebesar 230,9 % (uji resistensi dengan substrat  $\alpha$  naphthyl acetate) dan sebesar 465,80 % (uji resistensi dengan substrat  $\beta$  naphthyl acetate) jika dibandingkan dengan lokasi yang terpapar insektisida malathion selama 4 tahun dan frekuensi pengasapan 5 kali (1,2 kali/tahun).

#### B. Saran

Deteksi resistensi dengan teknik noda kertas saring perlu dikembangkan karena hasilnya lebih cepat dan lebih mudah diinterpretasi di lapangan.

## BAB VI

### RINGKASAN

#### A. LATAR BELAKANG

Sejak tahun 1974 insektisida organofosfat khususnya malathion dan temefos selalu dipakai untuk mengendalikan *Aedes aegypti* stadium larva dan dewasa di daerah Istimewa Yogyakarta, termasuk Kabupaten Sleman.

Kabupaten Sleman adalah salah satu wilayah di daerah Istimewa Yogyakarta dengan batas sebelah utara gunung Merapi, sehingga semakin ke utara cenderung semakin tinggi dari permukaan laut. Cangkringan adalah salah satu Kecamatan yang berbatasan dengan gunung Merapi. Batas sebelah selatan adalah kota Yogyakarta, Kecamatan Depok termasuk salah satu Kecamatan yang berbatasan dengan kota Yogyakarta. Dari data di Dinas Kesehatan Sleman diketahui bahwa kasus penyakit DBD tinggi di Depok dan sangat rendah di Cangkringan.

Dari penelitian-penelitian yang telah dilakukan di beberapa lokasi di Kulon Progo, Sleman dan kota Yogyakarta telah terjadi kecenderungan resistensi larva *Ae.aegypti* terhadap organofosfat.

Dari Kuala Lumpur, Malaysia dilaporkan bahwa kecenderungan resistensi tidak hanya terjadi pada *Ae.aegypti*, tetapi juga pada *Cx. quinquefasciatus* yang mestinya tidak terjadi sasaran pengasapan.

Permasalahan yang menarik untuk diteliti adalah bagaimana status resistensi larva *Cx. quinquefasciatus* di Kabupaten Sleman berdasarkan aktifitas enzim *esterase*? Bagaimana hubungan antara kecenderungan resistensi larva

*Cx. quinquefasciatus* dengan aplikasi insektisida malathion dalam hal lama frekuensinya?

## B. TINJAUAN PUSTAKA

*Cx. quinquefasciatus* berperilaku *anthropophilic* dan *zoophilic* dan menggigit pada malam hari. Dalam kehidupan sehari-hari nyamuk inilah pengganggu tidur yang sangat sering dijumpai sehingga orang terpaksa menggunakan bahan kimia pembunuh nyamuk (Gandahusada *et al*, 1993).

Proses terjadinya penurunan status kerentanan insektisida pada tubuh serangga termasuk nyamuk secara garis besar dapat dipengaruhi oleh tiga faktor yaitu faktor genetik, faktor biologis dan faktor operasional (Georgiou, 1979). Pengendalian nyamuk *Ae. aegypti* yang telah berlangsung sejak lebih kurang 26 tahun yang lalu di Kabupaten Sleman merupakan salah satu penyebab turunnya status kerentanan tubuh serangga dan insektisida.

Cara deteksi resistensi insektisida organofosfat yang akhir-akhir ini dikembangkan adalah cara biokemis, yang diantaranya dapat digunakan untuk mendeteksi peningkatan aktifitas enzim *esterase*, salah satu penyebab resistensi insektisida organofosfat. Metode ini kini sedang giat-giatnya dikembangkan di dunia, yang salah satunya adalah uji noda kertas saring (*filter paper spot technique*, FPST), yang akan diterapkan untuk deteksi larva nyamuk

*Cx. quinquefasciatus* hasil kolaborasi lapangan di Kabupaten

### C. LANDASAN TEORI

Salah satu dampak negatif penggunaan bahan kimia untuk mengendalikan vektor adalah resistensi serangga baik yang menjadi sasaran maupun yang tidak terjadi sasaran pengendalian.

Penggunaan insektisida malathion telah digunakan sejak 26 tahun yang lalu untuk mengendalikan vektor nyamuk *Ae.aegypti* terhadap insektisida malathion sudah sering dilakukan dan ada kecenderungan terjadi resistensi.

Dampak aplikasi insektisida malathion ini sangat luas sehingga sangat mungkin terjadi resistensi serangga yang mestinya tidak dijadikan sasaran pengendalian.

Nyamuk *Cx. quinquefasciatus* adalah salah satu spesies yang mestinya bukan sasaran, namun di Malaysia sudah dilaporkan terjadi resistensi terhadap organofosfat (malathion). Resistensi nyamuk *Cx. quinquefasciatus* di Malaysia, ada kaitannya dengan peningkatan aktivitas enzim *esterase*.

### D. CARA PENELITIAN

Penelitian ini berupa penelitian experimental semu dengan rancangan pra pasca perlakuan non random. Variabel bebas adalah aplikasi insektisida malathion, insektisida pertanian dan aktifitas enzim *esterase* pada nyamuk *Cx. quinquefasciatus* yang terjadi secara alami. Variabel terikat ialah resistensi *Cx. quinquefasciatus* terhadap malathion karena peningkatan enzim *esterase*. Variabel terkontrol ialah genetik, biologi dan kelembaban

Unit eksperimen dalam penelitian ini adalah larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus*, dari tiga dusun/lokasi di Kabupaten Sleman yaitu di Condong Catur, Depok ; Perumahan Minomartani, Ngaglik dan Perumahan Gebang Permai, Ngemplak dan satu lokasi untuk kontrol yaitu dusun Sebrang Wetan, Wukirsari, Cangkringan.

Unit sampling adalah larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* yang terdapat di comberan /parit di sekitar rumah penduduk..

Besar sampel ditentukan menurut Lemeshow *et al* (1997) dengan penetapan  $P_1 = 0.0025$  ;  $P_2$  lokasi I = 0,05 ;  $P_2$  lokasi II = 0,04 ;  $P_2$  lokasi III = 0,03 ; tingkat kemaknaan = 10% ; kekuatan = 90% ; hipotesis alternatif = satu sisi didapatkan sampel untuk lokasi I (Condong Catur, Depok) = 107, lokasi II (Perumahan Minomartani, Ngaglik) = 144, lokasi III (Perumahan Gebang, Ngemplak) = 214 dan untuk lokasi kontrol = 107.  $P_1$  adalah perkiraan proporsi resisten-tinggi (RR) pada lokasi kontrol,  $P_2$  adalah perkiraan proporsi resisten tinggi (RR) pada lokasi perlakuan.

Kriteria pemilihan kelompok perlakuan didasarkan pada (1) telah dilakukan pengasapan dengan insektisida malathion (2) frekuensi pengasapan dengan Insektisida malathion lebih dari 4 kali (3) larva diambil dari comberan dekat rumah penduduk.

Kelompok kontrol dipilih dari dusun/lokasi yang selama ini belum pernah dilakukan pengasapan dengan insektisida malathion.

Salah satu kesulitan dalam penelitian ini adalah pada saat melakukan interpretasi data karena pada dalam kertas coring Whatman tidak dapat dibaca

dengan densitometer, pemecahannya adalah TLC sanner dilakukan untuk membuat skor standar dan urutan intensitas/absorpsi warna yang selanjutnya dibaca secara visual. Skor standar ini dikuatkan dengan cara melakukan uji biokemis dari larva yang sama diuji dengan dua prosedur, prosedur pertama dari Pasteur dan Georgiou(1989), prosedur kedua dari Lee(1990).

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah dari ketiga faktor yang berpengaruh pada resistensi (genetik, biologi dan operasional), hanya faktor operasional yang dapat dikendalikan.

Unit sampling adalah rumah-rumah penduduk yang memnuhi kriteria inklusi, yaitu memiliki comberan yang positif ditemukan larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus*.

Besar sampel ditentukan menurut Lemeshow *et al* (1997) dengan penetapan  $P_1 = 0.0025$ ;  $P_2$  lokasi I = 0,05;  $P_2$  lokasi II = 0,04;  $P_2$  lokasi III = 0,03; tingkat kemaknaan = 10%; kekuatan = 90%; hipotesis alternatif = satu sisi didapatkan sampel untuk lokasi I (Condong Catur, Depok) = 107, lokasi II (Perumahan Minomartani, Ngaglik) = 144, lokasi III (Perumahan Gebang, Ngemplak) = 214 dan untuk lokasi kontrol = 107.  $P_1$  adalah perkiraan proporsi resisten tinggi (RR) pada lokasi kontrol,  $P_2$  adalah perkiraan proporsi resisten tinggi (RR) pada lokasi perlakuan.

Kriteria kontrol dipilih dari dusun/lokasi yang selama ini belum pernah dilakukan pengasapan dengan insektisida malathion.

Salah satu kesulitan dalam penelitian ini adalah pada saat melakukan interpretasi data, karena pada dalam kertas saring Whatman tidak dapat dibaca

dengan densitometer, pemecahannya adalah dibaca dengan TLC scanner dilakukan untuk membuat skor standar dan urutan intensitas/absorpsi warna yang selanjutnya dibaca secara visual.

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah dari ketiga faktor yang berpengaruh pada resistensi (genetik, biologi dan operasional), hanya faktor operasional yang dapat dikendalikan.

#### E. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Dari hasil uji resistensi larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* terhadap insektisida malathion dengan substrat  $\alpha$  naphthyl acetate terlihat bahwa Kabupaten Sleman memiliki rata-rata resisten tinggi (RR 7,05%, resisten sedang (RS) 23,33% dan status rentan 68,91%.

Proporsi larva nyamuk uji dengan status resisten tinggi (RR) tertinggi di Condong Catur, Depok yaitu 13,40%, terendah di perumahan Gebang, Ngemplak 3,11%, sedangkan di Wukirsari, Cangkringan yang menjadi lokasi kontrol, karena selama ini belum pernah dilakukan pengasapan dengan insektisida malathion ternyata proporsi resisten tinggi (RR) mencapai 4,05%, lebih tinggi di banding perumahan Gebang.

Hasil uji resistensi larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* terhadap insektisida malathion dengan substrat  $\alpha$  naphthyl acetate dianalisis dengan uji statistik One Way ANOVA, hasilnya menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna secara statistik antara status resistensi larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* yang sudah ada kenaikan resistensinya dari lokasi perlakuan

dan lokasi kontrol ( $P < 0,05$ ). Analisis dilanjutkan dengan uji perbandingan berganda *Post Hoc* dari prosedur One Way ANOVA menggunakan *Tukey HSD*. Hasil analisis menunjukkan bahwa status resistensi larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dari Condong Catur, Depok berbeda secara bermakna dengan dari perumahan Gebang. Untuk melihat adanya hubungan antara kenaikan status resistensi paa larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* terhadap insektisida malathion dengan lamanya 4 – 10 tahun dan frekuensi pengasapan dengan insektisida malathion 5 – 36 kali (3,6 kali/tahun) dilakukan analisis regresi linier. Analisis regresi linier dari hasil penelitian pada status resisten tinggi (RR) didapatkan adanya hubungan yang bermakna secara statistik ( $P < 0,05$ ), dengan koefisien regresi linier 0,588 untuk lamanya dan 0,233 untuk frekuensi/tahun.

Dari hasil resistensi larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* terhadap insektisida malathion dengan substral  $\beta$  naphthyl acetate diketahui bahwa larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* di Kabupaten Sleman memiliki rata-rata status resistensi sebagai berikut : resisten tinggi (RR) 6,32% resisten sedang (RS) 18,75% dan status rentan (SS) 75,14%.

Proporsi larva nyamuk uji dengan status resisten tinggi (RR) tertinggi di Condong Catur, Depok yaitu 10,58%, terendah di perumahan Gebang yaitu 1,87%, sedangkan di dusun Sebrang Wetan, Wukirsari, Cangkringan mencapai 4,05% ini adalah hasil di luar dugaan karena cangkringan adalah lokasi untuk kontrol karena selama ini tidak pernah ada pengasapan dengan insektisida



Hasil uji statistik One Way ANOVA, menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna secara statistik antara status resistensi larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* yang sudah ada kenaikan status resistensinya dari lokasi perlakuan dengan lokasi kontrol ( $P < 0,05$ ).

Analisis dilanjutkan dengan uji perbandingan berganda *Post Hoc* dari prosedur One Way ANOVA menggunakan *Tukey HSD*. Hasil analisis diperoleh bahwa status resistensi larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dari Condong Catur, Depok berbeda secara bermakna dengan larva dari perumahan Gebang, Ngemplak berbeda secara bermakna dengan larva dari perumahan Minomartani, Ngaglik.

Untuk melihat adanya hubungan antara kecenderungan resistensi larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dengan frekuensi pengasapan dengan insektisida malathion maka dilakukan analisis regresi linier. Hasilnya didapati adanya hubungan yang bermakna secara statistik ( $P < 0,05$ ) dengan koefisien regresi linier 0,619 untuk lamanya dari 0,277 untuk frekuensi/tahun.

## **F. ULASAN KONDISI TEMPAT PENGAMBILAN SAMPEL UNTUK KONTROL**

Dusun Sebrang Wetan, Wukirsari, Cangkringan dijadikan sebagai tempat pengambilan sampel untuk kontrol, karena selama ini belum pernah dilakukan pengasapan dengan insektisida malathion.

Dari hasil penelitian diketahui bahwa pada uji resistensi dengan substrat

$\alpha$  naphthyl acetate status resisten tinggi (RR) 4,05% dan resisten sedang (RS)

29,59%. Pada uji resistensi dengan substrat  $\beta$  naphthyl acetate status resisten tinggi (RR) 4,05% dan resisten sedang (RS) 21,50%.

Kemungkinan penyebab status resistensi tersebut adalah sebagai berikut:

1. Paparan insektisida pertanian

Mata pencaharian penduduk Sebrang wetan dan sekitarnya adalah bertani. Jenis tanaman yang terjadi andalan adalah sayuran. Untuk mendapatkan hasil yang diharapkan tidak bisa lepas dari penyemprotan hama tanaman, karena tingginya frekuensi penyemprotan ini sangat mungkin menjadi penyebab tingginya status resistensi. *Curacron* dan *Diazenon* adalah insektisida golongan organofosfat yang sering digunakan untuk memberantas insektisida pertanian di Cangkringan.

2. Paparan insektisida di sektor kesehatan.

Selama ini belum ada kasus DBD di dunia ini, sehingga riwayat penggunaan abate maupun pengasapan dengan malathion juga belum ada.

3. Paparan insektisida rumah tangga.

Penggunaan insektisida rumah tangga untuk pengendalian nyamuk sangat terbatas, sehingga kemungkinan pengaruhnya pada resistensi juga sangat terbatas.

4. faktor genetik.

Untuk menyimpulkan ada tidaknya genetik pada penelitian ini sulit dilakukan, dalam penelitian ini faktor variabel tak terkendali.

5. Faktor migrasi.

Untuk menyimpulkan ada tidaknya faktor ini juga sulit dilakukan

## KESIMPULAN

1. Larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* di Kabupaten Sleman (lokasi penelitian) telah menunjukkan adanya kecenderungan resistensi terhadap insektisida malathion dengan adanya peningkatan aktifitas enzim *esterase* non spesifik yang menghidrolisis substrat  $\alpha$  naphthyl acetate dan  $\beta$  naphthyl acetate.
2. Semakin lama dan semakin tinggi frekuensi paparan insektisida malathion semakin tinggi kenaikan aktifitas enzim *esterase* non spesifik yang menunjukkan kecenderungan resistensi nyamuk *Cx. quinquefasciatus* terhadap insektisida malathion di Kabupaten Sleman, dimana lokasi yang terjadi paparan selama 10 tahun dan frekuensi 36 kali (3,6 kali/tahun) cenderung mengalami kenaikan status resistensi sebesar 230,9% (uji resistensi dengan substrat  $\alpha$  naphthyl acetate) dan sebesar 465,80% (uji resistensi dengan substrat  $\beta$  naphthyl acetate) jika dibandingkan dengan lokasi yang terpapar insektisida malathion selama 4 tahun frekuensi pengasapan 5 kali (1,2 kali/tahun).

## DAFTAR PUSTAKA

- Abednego, H.P. and Suroso, 1998 *Mosquito Borne Disease : Status and Control in Indonesia*. Makalah Seminar Molecular Entomology Pusat kedokteran Tropis Universitas Gadjah Mada. 3-4. Annet-1.
- Anonim, 1993 *Pestisida untuk Pertanian dan Kehutanan*, Komisi Pestisida Departemen Pertanian. 32-82; 256-274.
- Anonim, 1994 *Petunjuk Pelaksanaan Proyek Peningkatan Pelayanan Kesehatan Masyarakat tahun 1994/1995*. Direktorat Jendral Pembinaan Kesehatan Masyarakat Departemen Kesehatan. 44 - 48.
- Aswin, S. 1997 *Metodologi Penelitian Kedokteran*. Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. 86-1001.
- Aswar, A. 1996 *Pengantar Ilmu Kesehatan Lingkungan*. PT. Mutiara Sumber Widya., Jakarta. 110-112.
- Bram, R.A. 1967 *The Genus Culex in Thailand (Diptera : Culicidae)*. American Entomological Institute. II.1. 179-182; 192-201.
- Boesri, H. 1996 *Evaluasi Hasil Pengasapan (Thermal Fogging) Malathion 96 EC, Icon 25 E C dan Lorsban 480 E C terhadap Ae. aegypti dan Cx. quinquefasciatus di Kabupaten Kebumen Jawa Tengah*. Media Litbangkes. II.02. 7-15.
- Chavasse, and Yap, 1997 *Chemical Methods for the Control of Vectors and Pests of Public Health Importance*. World Health Organization Division of Control of Tropical Diseases WHO Pesticide Evaluation Scheme.
- Faisya, A.F. 1999 *Deteksi Status Kerentanan Insektisida Organofosfat (temefos) secara Biokemios pada Larva Nyamuk Ae. aegypti di Kabupaten Kulon Progo*. Tesis untuk memperoleh derajat S 2 pada FETP UGM. 41-66.
- Georghiou, G. 1979 *Manajement of Resistance in Artropodism* G. P Georghiou & T Saito (ed) *Pest Resistance to Pesticide*, Plenum Press, New York. 771-772.
- Gandahusada, S., Illahude, dan Pribadi, 1993 *Parasitologi Kedokteran*, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. III : 196-201, 207-212.
- Hasyimi, M. 1993 *Vektor Demam Berdarah Dengue Berdasarkan Pengamatan di Alam*. Media Litbangkes. III.: 02. 16-18.
- Hoedjo, 1993 *Vektor Demam Berdarah Dengue dan Penanggulangannya*. Majalah Parasitologi Indonesia. 6(1), 31-44.
- Kidkian, P., Sapavey, S., Tumrasvin, W., Suchharil, S. 1990 *Medical Illustration Technique of Mosquito Borne Diseases*. MRC Tropmed Thailand. 127-129.
- Lemeshow, S., Hosmer, Jr.D.W., Klar, J., Lwanga, S. 1997 *Besar Sampel dalam Penelitian Kesehatan*. Gadjah Mada University Press. I:13-20.
- Lee, Ambibola and Singh. 1992 *Determination of Insecticide Susceptibility in Cx. quinquefasciatus Say Adults by Rapid Enzyme Microassays*. South East Asean Journal Trop. Med. Public Health. 23.458-463.



- Lee, H.L. 1990 A Rapid Simple Biochemical Method for the Detection of Insecticide Resistance Due to Elevated Esterase Activity in *Cx. quinquefasciatus*. *Tropical Biomedicine*. 7: 21-28.
- Lee, H.L., Lee, T.W., Law, F.M, and Cheong, W.H. 1984 *Priliminary studies on the susceptibility of field collected Aedes (Stegomyia) aegypti (Linnaeus) to Abate (temephos) in Kuala Lumpur*. *Trop.Biomed.* 1: 37-40.
- Lee, H.L, and Tadano, 1994 *Monitoring Resistance Gene Frequencies in Malaysian Cx. quinquefasciatus Say Adults Using Rapid Non Spesific Esterase Linzyme Microassays*. *Saouth East Asean Journal Trop. Med. Publich Health*. 271-272.
- Lee, H. L., 1991 *Esterases Activity and Temephos Susceptibility in Ae. aegypti (L.) Larvae*, mosquito Borne Disease Bulletin. 8. 91-94.
- Mardihusodo, S.J, 1995 *Deteksi Resistensi Insektisida Organofosfat pada Nyamuk Ae. aegypti. Linn. Dengan metode Uji Noda Kertas Saring*. Lembaga Penelitian Universitas Gadjah Mada. 3-17.
- Oka, I.N, 1995 *Pengendalian Hama Terpadu dan Implementasinya di Indonesia*. Gadjah Mada University Press.
- Pasteur, dan Georghiou, 1989 *Improved Filter Paper Test for Detecting and Quqntifying Increased Esterase Activity of Organophosphate Resistant Mosquitoes (Diptera : Cubicidae)*. *J. Econ Ento* 82 (2). 347-353.
- Pratiknya, A.W. 1986 *Dasar-dasar Metodologi Penelitian Kedokteran dan Kesehatan*. CV.Rajawali. Jakarta. 153-156
- Reuben, R., Kaul, H.N., Soman, R., Siswa, 1988 *Mosquitoes of Arboviral Importance in India*, Mosquito Borne Disease Bulletin. 8. 91-94.
- Santoso, S. 1999 *SPSS Mengolah Data Statistik secara Profesional*, PT. Eka Media Komputindo Kelompok Gramedia. Jakarta. 192-254.
- Service, 1996 *Medical Entomology for Student*. Chapman and Hall. University and Profesional Devision. 56-58.
- Soedarto, 1990 *Entomologi Kedokteran*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. 59-66, 96-102.
- Trapp, R.G., Sounders, B.D., 994 *Basic and Clinical Biostatistik*. A Langa Medical Book. Connecticut. Amerika. 125-142, 171-181.
- Tri Boewono, D. 1999 *Koleksi Referensi Nyamuk di Jawa Tengah dalam Koleksi Referensi Nyamuk di Indonesia*. Laporan akhir penelitian rutin.
- Widarso dan Bambang Ismolyowono, 1997 *Filariasis Control in Indonesia*. Makalah seminar.
- World Health Organization, 1991 *Safe Use of Pesticides*. WHO. Geneva. 11-6.
- World Health Organization, 1992 *Vector Resistance to Pesticides*. WHO. Geneva, 2-24.
- World Health Organization, 1982 *Manual on Environment Management for Mosquito Control*. WHO. Geneva. 160-162, 241-246
- World Health Organization, 1979 *Vector Control*. WHO. Geneva.