

Article

IDENTIFIKASI MUTASI GEN VOLTAGE-GATED SODIUM CHANNEL SEBAGAI PENANDA RESISTENSI INSEKTISIDA SIPERMETRIN PADA *Aedes aegypti* DI WILAYAH KERJA PUSKESMAS LEPO-LEPO, KOTA KENDARI

Arimaswati¹, Hasyiatul Rahmi Lasaima², Mubarak³

^{1,2} Prodi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Halu Oleo, Kendari, Indonesia

³ Prodi Keperawatan, Fakultas Kedokteran, Universitas Halu Oleo, Kendari, Indonesia

SUBMISSION TRACK

Received: March 05, 2025

Final Revision: March 18, 2025

Available Online: March 25, 2025

KEYWORDS

Resistensi, Sipermetrin, Insektisida, Gen VGSC, Mutasi

CORRESPONDENCE

Phone:

E-mail: arimaswati82@gmail.com

ABSTRACT

Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) is a disease caused by the dengue virus transmitted by *Aedes* spp. mosquitoes and has caused extraordinary events in various regions. The Kendari City Government has used cypermethrin as the main ingredient in fogging for the past six years. Prolonged use of insecticides has the potential to cause resistance through mutations in the VGSC (Voltage-Gated Sodium Channel) gene. This study aims to identify VGSC gene mutations in *Aedes aegypti* as a marker of resistance to cypermethrin insecticides in the working area of the Lepo-Lepo Community Health Center, Kendari City. This study is a descriptive observational study with a laboratory approach. The study was conducted at the Biomedical Laboratory of the Faculty of Medicine, Halu Oleo University using *Aedes aegypti* mosquito samples from the working area of the Lepo-Lepo Community Health Center. Samples were selected using cluster sampling techniques. PCR and electrophoresis techniques were used to detect mutations in the IIS6 domain of the VGSC gene. No bands were found in the electrophoresis results, indicating no mutations in the IIS6 domain of the VGSC gene in *Aedes aegypti* mosquitoes, so the mosquitoes are still susceptible to cypermethrin insecticide. This is supported by the results of the WHO Bioassay Test which showed a 100% mosquito mortality rate in each sub-district. No mutations in the VGSC gene domain IIS6 were found in *Aedes aegypti* mosquitoes as a marker of resistance to cypermethrin insecticide using PCR and electrophoresis techniques in the working area of the Lepo-Lepo Community Health Center, Kendari City.

I. PENDAHULUAN

DBD adalah penyakit virus dari keluarga *Flaviviridae* yang ditularkan oleh nyamuk dan disebabkan oleh salah satu dari empat serotipe virus dengue (DENV-1 sampai DENV-4). Virus ini ditularkan melalui gigitan nyamuk vektor *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus*.

Dalam tiga tahun terakhir di Indonesia, tren DBD mengalami perubahan yang fluktuatif.

Tahun 2021 tercatat 73.518 kasus dengan 705 kematian. Angka ini meningkat pada tahun 2022 menjadi 143.176 kasus dengan 1.236 kematian, lalu menurun pada tahun 2023 menjadi 114.720 kasus dan 894 kematian. Hingga September 2024, terjadi lonjakan tajam menjadi 186.324 kasus dan 1.120 kematian.

Provinsi Sulawesi Tenggara pada tahun 2023 berada di peringkat ke-22 dengan jumlah kasus DBD tertinggi yaitu 1.574

kasus dengan 14 kematian. Hingga September 2024, jumlah kasus meningkat menjadi 4.363 kasus dengan 20 kematian, menjadikan provinsi ini berada di peringkat ke-10.

Di Kota Kendari sendiri, tahun 2023 terdapat 253 kasus DBD. Hingga Juli 2024, terjadi peningkatan signifikan menjadi 1.678 kasus dengan 13 kematian. Kecamatan dengan kasus tertinggi adalah Kecamatan Baruga, wilayah kerja Puskesmas Lepo-Lepo, dengan 323 kasus dan 2 kematian di tahun 2024.

Upaya pengendalian melalui metode kimia telah dilakukan pemerintah secara berkala, yaitu dengan metode fogging. Berdasarkan data Dinas Kesehatan Kota Kendari, jenis insektisida yang digunakan untuk fogging adalah sipermetrin dari kelompok piretroid, dan telah digunakan selama enam tahun terakhir.

Peningkatan kasus DBD disebabkan oleh berbagai faktor seperti perubahan iklim yang memengaruhi suhu, curah hujan, dan kelembapan. DBD umumnya terjadi di wilayah tropis dan subtropis. Kecamatan Baruga menjadi daerah dengan insiden tertinggi karena rendahnya kesadaran masyarakat terhadap kebersihan lingkungan, genangan air, dan tingginya mobilitas penduduk.

Resistensi terhadap insektisida dapat terjadi karena berbagai mekanisme seperti resistensi perilaku, penetrasi yang menurun, resistensi target, dan resistensi metabolik. Pada sipermetrin, resistensi terjadi melalui mekanisme resistensi target (*target-site resistance*), yang disebabkan oleh mutasi pada gen *Voltage-Gated Sodium Channel* (VGSC). Gen VGSC memiliki 4 domain, dan domain IIS6 paling sering mengalami mutasi di Indonesia.

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi mutasi gen VGSC pada nyamuk *Aedes aegypti* sebagai penanda resistensi terhadap sipermetrin menggunakan teknik PCR dan elektroforesis di wilayah kerja Puskesmas Lepo-Lepo, Kota Kendari.

II. METODE

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan studi observasional deskriptif dengan

pendekatan laboratorium. Populasi penelitian adalah nyamuk *Aedes aegypti* dari wilayah kerja Puskesmas Lepo-Lepo. Sampel penelitian adalah nyamuk *Aedes aegypti* betina dewasa yang dikumpulkan dari empat kelurahan di Kecamatan Baruga menggunakan ovitrap dan pengambilan larva.

Instrumen Penelitian

Alat dan bahan yang digunakan antara lain: ovitrap, nampan, mesin PCR, alat elektroforesis, botol Uji Bioassay WHO, vortex, sentrifus, tabung sentrifus 15 ml, mikro-tube 1,5 ml, lesung, mikropipet, berbagai jenis tip, lemari pendingin, *water bath*, sonikator, alat tulis, sarung tangan, PCR mix, Wizard Extraction Kit® Promega, kertas yang dilapisi sipermetrin 0,05%, alkohol isopropil, etanol 70%, primer domain IIS6 (forward dan reverse), agarosa 2%, EtBr, buffer TAE, PbS, TE, aquabidest, dan kertas saring.

Uji Bioassay WHO

Nyamuk yang telah dikembangbiakkan diuji resistensinya menggunakan metode Uji Bioassay WHO. Uji ini digunakan untuk memisahkan nyamuk yang resisten dan yang masih rentan terhadap insektisida. Sebanyak 100 nyamuk betina *Aedes aegypti* umur 3–5 hari yang telah dipuasakan selama 2 jam digunakan. Lima tabung digunakan, empat untuk uji dengan kertas sipermetrin 0,05% dan satu tabung kontrol dengan kertas yang dilapisi aseton. Setiap tabung diisi 20 nyamuk dan diamati setiap 15 menit selama 1 jam. Setelah itu nyamuk dipindahkan ke kandang pemulihan dan diberi larutan gula 10%. Kematian nyamuk dihitung setelah 24 jam. Menurut WHO (2022), status resistensi nyamuk dikategorikan sebagai: rentan (98–100%), toleran (90–97%), dan resisten (<90%). Jika kematian pada kelompok kontrol 5–20%, maka dilakukan koreksi menggunakan rumus Abbott.

Uji Molekuler

Sampel nyamuk yang telah diuji Bioassay dikumpulkan dan diproses untuk ekstraksi DNA. Sebanyak 10 individu dicampur, dihancurkan, dan diekstraksi dengan Wizard Purification Kit®. PCR dilakukan dengan campuran: PCR Mix 5 µl, primer forward dan reverse masing-masing 0,5 µl, DNA 1 µl, dan air bebas nuklease 3 µl. Protokol PCR: denaturasi awal 94°C (3

menit), 35 siklus denaturasi 94°C (15 detik), annealing 59°C (30 detik), elongasi 72°C (30 detik), dan ekstensi akhir 72°C (10 menit). Panjang pita dianalisis menggunakan BLAST NCBI.

Etika Penelitian

Penelitian ini telah mendapatkan rekomendasi etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Halu Oleo dengan nomor: 139/UN29.17.1.3/ETIK/2024.

III. HASIL

Hasil Uji Bioassay WHO terhadap Resistensi Nyamuk *Aedes aegypti* terhadap Insektisida Sipermetrin 0,05%

Hasil uji resistensi WHO Bioassay terhadap nyamuk *Aedes aegypti* terhadap insektisida sipermetrin 0,05% di Kecamatan Baruga, Kota Kendari disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Jumlah dan Persentase Kematian Nyamuk *Aedes aegypti* di Kecamatan Baruga setelah 24 Jam Paparan Sipermetrin 0,05%

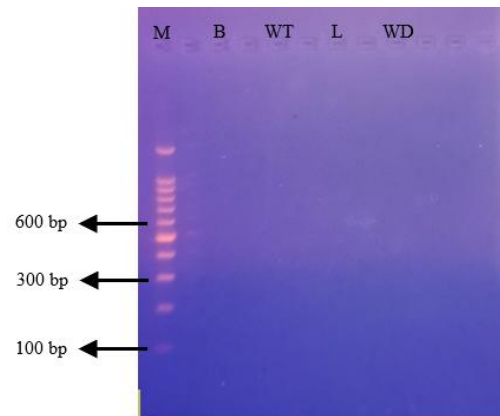
Location	Samples	Death (%)	Status
Baruga	100	100	Susceptible
Watubangga	100	100	Susceptible
Lepo-Lepo	100	100	Susceptible
Wundudopi	100	100	Susceptible
Control*	100	0	-

*Keterangan: Tidak ada kematian pada kelompok kontrol sehingga tidak dilakukan koreksi dengan rumus Abbott.

Tabel menunjukkan bahwa semua nyamuk *Aedes aegypti* dari tiap kelurahan di Kecamatan Baruga mengalami kematian 100% setelah 24 jam terpapar sipermetrin 0,05%. Dalam waktu 15 menit hingga 1 jam pertama, seluruh nyamuk mengalami knockdown 100%. Menurut WHO (2022), nyamuk dikatakan **rentan** jika tingkat kematian $\geq 98\%$, **toleran** jika $90\% - <98\%$, dan **resisten** jika $<90\%$. Berdasarkan kriteria ini, semua nyamuk *Aedes aegypti* di Kecamatan Baruga tergolong **rentan (100%)**.

Penentuan Mutasi Gen VGSC pada Domain IIS6

Deteksi mutasi diukur melalui elektroforesis dengan hasil berupa visualisasi pita DNA pada gel. Hasil PCR elektroforesis terhadap nyamuk yang telah diuji WHO Bioassay disajikan dalam Gambar 1.



Gambar 1. Visualisasi Amplifikasi Gen VGSC IIS6 Nyamuk *Aedes aegypti* dari Kecamatan Baruga.

Keterangan: B (Baruga), WT (Watubangga), L (Lepo-Lepo), WD (Wundudopi), dan M (Marker 100bp DNA ladder)

Hasil menunjukkan **tidak ada pita** yang terbentuk pada setiap wilayah, termasuk di posisi 619 bp. Menurut penelitian Purwaningsih et al. (2019), mutasi pada gen VGSC domain IIS6 terjadi bila muncul pita di posisi 619 bp. Tidak adanya pita menunjukkan bahwa tidak terdapat mutasi pada gen tersebut.

IV. PEMBAHASAN

Uji Bioassay WHO terhadap Resistensi Sipermetrin 0,05%

Resistensi terhadap insektisida dapat terjadi jika digunakan secara intensif dalam jangka waktu 2–20 tahun. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa nyamuk *Aedes aegypti* masih **rentan terhadap sipermetrin 0,05%**, meskipun telah digunakan selama 6 tahun. Hasil ini sejalan dengan Sukaningtyas et al. (2021) di Pelabuhan Tanjung Emas, Semarang, dan Suhartati et al. (2020) di Pelabuhan Tanjung Balai Karimun, Kepulauan Riau, di mana nyamuk tetap rentan meskipun penggunaan insektisida berlangsung 6–9 tahun.

Sebaliknya, beberapa wilayah di Indonesia telah mengalami resistensi, seperti penelitian Arimaswati (2016) di Kulon Progo dan Irawati & Putri (2021) di Klaten, yang menunjukkan resistensi setelah 10–13 tahun penggunaan sipermetrin.

Faktor yang memengaruhi resistensi meliputi frekuensi dan intensitas fogging. Di Kota Kendari, fogging tidak dilakukan secara intensif dan hanya dilakukan saat terjadi kasus DBD, yang mungkin menjelaskan mengapa nyamuk masih rentan.

Penentuan Mutasi Gen VGSC pada Domain IIS6

Resistensi terhadap insektisida bersifat **herediter**, melibatkan perubahan pada gen nyamuk. Insektisida sipermetrin menargetkan kanal natrium (VGSC), dan mutasi titik pada gen ini dapat menyebabkan resistensi. Namun, pada penelitian ini tidak ditemukan mutasi domain IIS6 gen VGSC.

Hasil ini sesuai dengan Mulyaningsih et al. (2018) di Yogyakarta yang juga tidak menemukan mutasi meskipun penggunaan sipermetrin berlangsung 10 tahun. Sebaliknya, penelitian Purwaningsih et al. (2019) di Kota Palu menemukan mutasi di pita 619 bp meski baru digunakan 6 tahun, kemungkinan karena penggunaan insektisida rumah tangga berbahan piretroid mencapai 76,67%.

Perbedaan kondisi ini juga terlihat dari kebiasaan masyarakat. Warga Baruga jarang menggunakan insektisida rumah tangga, berbeda dengan Palu. Penelitian

Mashlawi et al. (2022) di Arab Saudi juga menunjukkan adanya mutasi domain IIS6 (S989P, V1016G) dan IIS6 (F1534C), setelah penggunaan insektisida sejak 1948.

Mutasi pada domain IIS6 dan linker antara S4–S5 merupakan lokasi pengikatan insektisida lipofilik seperti sipermetrin. Sementara domain lain seperti domain IV lebih berperan terhadap toksin yang larut air.

Faktor lain adalah kemampuan adaptasi nyamuk yang tinggi karena siklus reproduksi yang cepat. Penelitian Mantolu et al. (2016) menunjukkan bahwa resistensi dapat meningkat hingga 5–18 kali pada generasi berikutnya.

Lingkungan juga berperan, karena *Aedes aegypti* bertelur di dinding dalam wadah air bersih, dan masyarakat Baruga masih banyak yang menampung air hujan tanpa pemberian larvasida.

V. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, dapat disimpulkan bahwa tidak ditemukan mutasi gen VGSC domain IIS6 pada nyamuk *Aedes aegypti* sebagai penanda resistensi terhadap insektisida sipermetrin. Hal ini dibuktikan dengan tidak terbentuknya pita pada hasil elektroforesis dan tingkat kematian 100% pada uji Bioassay WHO di wilayah kerja Puskesmas Lepo-Lepo, Kota Kendari.

DAFTAR PUSTAKA

- Sugianto, N.A. Pathophysiology of Dengue Haemorrhagic Fever. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2021; 10(14): 218–223.
- Kemkes RI. Update Data Dengue. <https://p2p.kemkes.go.id/update-data-dengue/#>. 2024; (14:59).
- Dinas Kesehatan Kota Kendari. 2024. *Data Kasus DBD dan Penggunaan Insektisida Menurut Kecamatan di Kota Kendari Tahun 2019*. 2024
- WHO. Dengue and severe dengue. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>. 2024; (15:40)
- Puskesmas Lepo-Lepo. Profil Puskesmas Lepo-Lepo Tahun 2023. Kendari.
- Siddiqui, J.A., Fan, R., Naz, H., Bamisile, B.S., Hafeez, M., Ghani, M.I., Wei, Y. Insights into insecticide-resistance mechanisms in invasive species: Challenges and control strategies. *Frontiers in Physiology*. 2023;13: 1-18.
- Ranathunge, T., Udayanga, L., Sarasija, S., Karunathilaka, S., Nawarathne, S., Rathnarajah, H., Dulficar, F.F. Voltage-Gated Sodium Channel (Vgsc) Mutation-Based Pyrethroid Resistance in *Aedes aegypti* Populations of Three Endemic Dengue Risk Areas of Sri Lanka. *BioMed Research International*. 2021;1–10.
- WHO. Standard Operating Procedure for Testing Insecticide Susceptibility of Adult Mosquitoes in WHO Tube Test. 2022
- Hidayahtullah, F.S., Anwar, C., Handayani, D. Mutasi Titik F1534C Gen Voltage Gated Sodium Channel (VGSC) pada *Aedes aegypti* di Kelurahan Pancur Pungah. *Jambi Medical Journal*. 2020; 8(1): 26–33.
- Purwaningsih., Umniyati, S.R., Mulyaningsih, B. Combined Target Site Vgsc Mutations Play a Primary Role in Pyrethroid Resistant Phenotypes of *Aedes Aegypti* As Dengue Vector From Palu City Central Sulawesi. *Indonesian Journal of Tropical and Infectious Disease*. 2019; 7(5): 93–98.
- Kandi, J.C., Almet, J., Ndaong, N.A. Literature Study of Resistance Status of *Aedes* sp. Against Larvacides in Indonesia. *Jurnal Veteriner Nusantara*. 2023; 6(10): 1–13.
- Sukaningtyas, R., Udijono, A., Martini, M. Status Kerentanan Nyamuk *Aedes aegypti* terhadap Insektisida Sipermetrin di Area Perimeter dan Buffer Pelabuhan Tanjung Emas Kota Semarang. *Jurnal Vektor dan Reservoir Penyakit*. 2020;13(1): 11-18.
- Suhartati., Martini., Hestiningsih, R., Ginandjar, P. Status Kerentanan Nyamuk *Aedes aegypti* Terhadap Insektisida Sipermetrin di Pelabuhan Tanjung Balai Karimun Provinsi Kepulauan Riau. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 2020;8(6): 752–756.
- Arimaswati. Penentuan Status Resistensi terhadap Insektisida dan Serotipe Virus Dengue pada Nyamuk *Aedes aegypti* dari Kabupaten Kulon Progo Yogyakarta. *Tesis*. Program Pascasarjana Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, 2016.
- Irawati, N.B.U., Putri, N.E. 2021. Resistensi Nyamuk *Aedes aegypti* Terhadap Cypermethrin di Kabupaten Klaten, Jawa Tengah. *Jurnal Kesehatan Lingkungan Ruwa Jurai*. 2021;15(1): 1–7.
- Syamsir dan Daramusseng, A. Analisis Spasial Efektifitas Fogging di Wilayah Kerja Puskesmas Makroman, Kota Samarinda. *Jurnal Nasional Ilmu Kesehatan*. 2018;1(2): 1–7.
- Mulyaningsih, B., Umniyati, S.R., Satoto, T.B.T., Diptyanusa, A., Nugrahaningsih, D.D.A., Selian, Yahiddin. Insecticide Resistance and Mechanisms of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Yogyakarta. *Journal of the Medical Sciences (Berkala Ilmu Kedokteran)*. 2018;50(01): 24-32.
- Mashlawi, A.M., Al-Nazawi, A.M., Nouredin, E.M., Alqahtani, H., Mahyoub, J.A., Saingamsook, J., Debboun, M. Molecular Analysis of Knockdown Resistance (kdr) Mutations in The Voltage-Gated Sodium Channel Gene of *Aedes aegypti* Populations From Saudi Arabia. *Parasites and Vectors*. 2022;15(375): 1–13.
- Field, L.M., Davies, T.G.E., O'Reilly, A.O., Williamson, M.S., Wallace, B.A. Voltage-Gated Sodium Channels As Targets For Pyrethroid Insecticides. *European Biophysics Journal*.

2017;46(7): 675–679.

XU, L., Ding, X., Wang, T., Mou, S., Sun, H., Hou, T. Voltage-Gated Sodium Channels: Structures, Functions, and Molecular Modeling. *Drug Discovery Today*. 2019;24(7): 1389–1397.

Mantolu, Y., Kustiati., Ambarningrum, T.B., Yusmalinas, S., Ahmad, I. Status dan perkembangan resistensi *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae) strain Bandung, Bogor, Makassar, Palu, dan VCRU terhadap insektisida permetrin dengan seleksi lima generasi. *Jurnal Entomologi Indonesia*. 2016;13(1): 1–8.

CDC. Life Cycle of Aedes Mosquito. www.cdc.gov/mosquitoes/about/life-cycles/aedes, 2022.