

## BAB 6

### PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan pada sampel nyamuk *Aedes aegypti* yang berasal dari Laboratorium Entomologi Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur, Jl. Jendral A. Yani No. 118, Kota Surabaya. Pada uji resistensi penelitian ini dengan menggunakan biakan nyamuk dari Laboratorium Entomologi Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur dan bukan berasal dari nyamuk liaran berbagai daerah yang sering terpapar dengan insektisida golongan Organofosfat. Sampel tersebut dilakukan uji resistensi pada metode CDC dengan insektisida organofosfat Fenitrothion kemudian nyamuk dimasukkan kedalam botol uji selama waktu diagnostik yaitu 30 menit dengan melakukan pengamatan setiap 15 menit sekali menggunakan timer, kemudian dari nyamuk *Aedes aegypti* yang hidup dilakukan uji biologi molekuler yaitu *Polymerase Chain reaction* (PCR) untuk mendeteksi ada atau tidaknya gen *Ace-1* pada sampel yang telah dilakukan screening tersebut. Gen *Ace-1* pada *Ae. aegypti* terletak pada kromosom ke 3 yaitu pada lokus ke 106 sampai lokus ke 386. Gen *Ace-1* memiliki genome region sebanyak 138.970 bp, dan, tujuh intron dengan delapan exon (muhammad Teguh, 2019).

Proses mendeteksi adanya gen *Ace-1* pada nyamuk *Aedes aegypti* yang resisten insektisida organofosfat sebagai pengkode *Ace-1* dilakukan dengan tahapan ekstraksi DNA dari suspensi nyamuk *Aedes aegypti*. Selanjutnya dilakukan uji kemurnian dengan spektrofotometer *nanodrop* didapatkan nilai kemurnian DNA yang tinggi dan baik sesuai dengan rumus *Optical Density* (OD) 260/280. Sehingga suspensi ekstraksi DNA dapat dilanjutkan dengan amplifikasi

DNA menggunakan RT-PCR untuk mengamati hasil berupa nilai CT (Cycle Threshold).

Hasil akhir deteksi gen *Ace-1* dengan teknik biologi molekuler menggunakan metode RealTime – PCR yang berupa nilai CT sebagai penentu jumlah siklus yang didapatkan setelah sinyal fluoresens berhasil untuk melewati nilai ambang/threshold. Pada deteksi gen *Ace-1* memerlukan jumlah siklus sebesar 35 siklus pada running sampel. Hasil deteksi pada kontrol positif dengan nilai CT yang kurang dari jumlah siklus atau masih dalam cakupan dari jumlah siklus hal tersebut menunjukkan bahwa telah terdeteksi gen *Ace-1*.

Hasil akhir yang ditunjukkan pada tabel 5.3 bahwa pada replikasi 4 sampel yang ada diperoleh satu hasil yang positif pada sampel 4 dengan nilai CT 1,47 sedangkan 3 lainnya dikatakan negatif dengan munculnya N/A (Not Available) atau tidak tersedia. Maka dapat dibuat persentase sesuai dengan gambar 5.3.1 sampel yang terdeteksi adanya gen *Ace-1* dengan hasil 25% dan 75% lainnya tidak terdeteksi adanya gen *Ace-1*. Pada hasil persentase 25% menunjukkan bahwa nyamuk *Aedes aegypti* yang berasal dari Laboratorium Entomologi Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur telah terdeteksi adanya gen *Ace-1* pada nyamuk *Aedes aegypti* yang menyandi enzim AChE (*Asetilkolinesterase*) sebagai target site dari insektisida golongan organofosfat fenitrothion.

Dari hasil dengan persentase 75% tidak terdeteksi adanya gen *Ace-1* pada nyamuk *Aedes aegypti*, hal tersebut karena diduga telah terjadi mutasi pada gen *Ace-1*. Terdapat kemungkinan terjadinya mutasi gen *Ace-1* yang berhubungan dengan insensitivitas asetilkolinesterase pada nyamuk yaitu mutasi G119S (perubahan asam amino glycine menjadi serine pada kodon ke 119), F416V

(perubahan asam amino phenylalanine menjadi valine pada kodon ke-416) atau dikenal juga dengan mutasi F290V menggunakan nomenklatur Torpedo californica, dan F455W (perubahan asam amino phenylalanine menjadi tryptophan pada kodon ke-455) atau F331W menggunakan nomenklatur TorpedoCalifornica penjelasan dari peneliti (muhammad Teguh, 2019)

Penggunaan insektisida pada nyamuk dengan perlakuan yang secara rutin dan tidak terkontrol dapat memberikan efek yang menyebabkan resistensi terhadap insektisida sehingga menyebabkan peningkatan mortalitas pertumbuhan pada nyamuk. Salah satu faktor yang mempengaruhi perkembangan resistensi adalah tingkat tekanan selektif yang dialami populasi serangga/vektor (Lesmana, 2017). Untuk menekan angka penurunan resistensi nyamuk dapat dilakukan dengan penggunaan insektisida yang sesuai dengan prosedur dan dosis yang tepat.