



RAHASIA

LAPORAN PENELITIAN

**SITUASI MALARIA (ANGKA KESAKITAN, VEKTOR POTENSIAL,
EFEKTIFITAS KELAMBU LLINs) DI PROVINSI MALUKU**

Tim Peneliti

Balai Penelitian dan Pengembangan Biomedis Papua

**BALAI LITBANG BIOMEDIS PAPUA
JL.KESEHATAN NO.10 DOK II JAYAPURA
PAPUA
2017**

SK TIM PENELITI



KEMENTERIAN KESEHATAN RI BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN

Jl. Percetakan Negara No. 23 Jakarta 10560 Indonesia Kotak Pos 1226
Telepon: (021) 42881758, 42881763, 42881762, 42881745, Faksimile: (021) 42881754
Website: www.pusat1.itihang.depkes.go.id, E-mail: ppnl-pusat1@itihang.depkes.go.id

KEPUTUSAN

KEPALA PUSAT PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN NOMOR HK.02.04/11/1475/2016

TENTANG

PEMBENTUKAN TIM PELAKSANA PENELITIAN TAHUN 2016

SITUASI MALARIA (ANGKA KESAKITAN, VEKTOR POTENSIAL, EFEKTIVITAS KELAMBU LLINa) DI PROVINSI MALUKU

KEPALA PUSAT PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN

MENYINGKAT

- a. bahwa untuk melaksanakan kegiatan penelitian pada Balai Penelitian dan Pengembangan Biomedis Papua, sebagai ampuan Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan (Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan) Tahun 2016, perlu ditunjuk Tim Pelaksana Penelitian;
- b. bahwa untuk mengetahui apakah penggunaan insektisida piretroid yang terdapat pada LLINa masih aktif membunuh vektor malaria di Kabupaten Maluku Barat Daya dan Maluku Tenggara Barat. Dengan pengawasan yang berkala akan memberikan informasi kepada pengambil kebijakan agar dapat digunakan dalam mengambil kebijakan dalam penggunaan jenis insektisida, sehingga pengumpulan data/informasi yang dihasilkan dapat dipertanggungjawabkan dari segi aspek ilmiah;
- c. bahwa sehubungan dengan pertimbangan huruf a dan b tersebut, maka dipandang perlu menetapkan Keputusan Kepala Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan tentang Pembentukan Susunan Tim pelaksana penelitian Tahun 2016.

MENGINGAT

1. Undang-Undang Nomor 18 Tahun 2001 tentang Sistem Nasional Penelitian, Pengembangan, dan Penerapan Ilmu Pengetahuan Teknologi (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2002 Nomor 84, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 4219);
2. Undang-undang Nomor 36 Tahun 2009 tentang Kesehatan (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2009 Nomor 144, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 5003);
3. Peraturan Pemerintah Nomor 39 Tahun 1996 tentang Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (Lembaran Negara Tahun 1996 Nomor 07, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 3008);
4. Peraturan Pemerintah Nomor 20 Tahun 2005 tentang Alih Teknologi Kekayaan Intelektual serta Hasil Penelitian dan Lembaga Penelitian dan Pengembangan (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2005 Nomor 43, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4497);
5. Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 64/Menkes/PER/06/2016 tentang Organisasi dan Tata Kerja Kementerian Kesehatan;
6. Keputusan Menteri Kesehatan Nomor 791/Menkes/SK/VI/1999 tentang Kebijakan Nasional Penelitian dan Pengembangan Kesehatan;
7. Keputusan Menteri Kesehatan Nomor 1179/Menkes/SK/VI/1999 tentang Kebijakan Nasional Penelitian dan Pengembangan Kesehatan;



KEMENTERIAN KESEHATAN RI
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN

Jl. Perrotokan Negara No. 23 Jakarta 10560 Indonesia Kotak Pos 1226
Telepon: (021) 42881758, 42881763, 42881762, 42881745, Faksimile: (021) 42881754
Website: www.pusatl.litbang.depkes.go.id, E-mail: ppid-pusatl@litbang.depkes.go.id

- MEMPERHATKAN** :
1. Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Balai Litbang Biomedis Papua Tahun 2016 dengan No. SP DIPA-024.112.416181/2016, tanggal 7 Desember 2015;
 2. Surat Perjanjian Pelaksanaan Penelitian (SP3) dari Balai Litbang Biomedis Papua Tahun 2016 dengan No. HK.02.040XV91/2016, tanggal 10 Januari 2016.

MEMUTUSKAN

- MEMETAPKAN** : KEPUTUSAN KEPALA PUSLITBANG BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN TENTANG PEMBENTUKAN TIM PELAKSANAAN PENELITIAN SITUASI MALARIA (ANGKA KESAKITAN, VEKTOR POTENSIAL, EFEKTIFITAS KELAMBU LLINs) DI PROVINSI MALUKU;
- KESATU** : Susunan dan tugas Tim Pelaksana Penelitian Situasi Malaria (Angka Kesakitan, Vektor Potensial, Efektifitas Kelambu LLINs) di Provinsi Maluku, tercantum dalam lampiran yang merupakan bagian tidak terpisahkan dari keputusan ini;
- KEDUA** : Dalam melaksanakan tugasnya, Tim bertanggungjawab kepada Kepala Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan melalui Kepala Balai Penelitian dan Pengembangan Biomedis Papua, serta wajib menyampaikan laporan akhir penelitian sebagai pertanggungjawaban kegiatan;
- KETIGA** : Biaya pelaksanaan kegiatan Tim Pelaksana Penelitian Tahun 2016 dibebankan pada anggaran DIPA Balai Penelitian dan Pengembangan Biomedis Papua Tahun 2016;
- KEEMPAT** : Keputusan ini mulai berlaku untuk tahun anggaran 2016.

Ditetapkan di : Jakarta
Pada tanggal : 1 Februari 2016

KEPALA PUSAT PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN BIOMEDIS
DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN,

Pretty Multhartina
PRETTY MULTHARTINA



KEMENTERIAN KESEHATAN RI
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
Jl. Percetakan Negara No. 23 Jakarta 10560 Indonesia Kotak Pos 1226
Telepon: (021) 42881758, 42881763, 42881762, 42881745, Faksimile: (021) 42881754
Website: www.pusatlitbang.depkes.go.id, E-mail: ppid-pusatlitbang.depkes.go.id

Lampiran 1

Keputusan Kepala Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan
Nomor : HK.02.04/01475/2016
Tanggal : 1 Februari 2016

SUSUNAN TIM PELAKSANA PENELITIAN TAHUN 2016
SITUASI MALARIA (ANGKA KESAKITAN, VEKTOR POTENSIAL,
EFEKTIFITAS KELAMBU LLINa) DI PROVINSI MALUKU

No.	Nama	Kedudukan Dalam Tim	Uraian Tugas
1.	Ivon Ayoni, S. Si	Peneliti Pertama/ Kebua Pelaksana	Bertanggungjawab terhadap seluruh aspek kegiatan penelitian uji resistensi dan efektifitas kelambu berinsektisida (LLINa) terhadap vektor malaria
2.	Herma Kawulur, S. Pd, M. Si	Peneliti Pertama	Bertanggungjawab terhadap analisa dan pemeriksaan gen Kdr pada sampel nyamuk Anopheles spp di Laboratorium Molekuler
3.	Hotma Hutapea, M. Si	Peneliti Pertama	Bertanggungjawab terhadap analisa dan pemeriksaan gen Kdr pada sampel nyamuk Anopheles spp di Laboratorium Molekuler
4.	Samuel Sandy, M. Sc	Peneliti Pertama	Bertanggungjawab terhadap analisis dan pemeriksaan parasit malaria
5.	Hana Krimawati, M. Sc	Pembantu Peneliti	Bertanggungjawab terhadap analisa dan pemeriksaan gen Kdr pada sampel nyamuk Anopheles spp di Laboratorium Molekuler
6.	Melza S. Suebu, S. Si	Pembantu Peneliti	Bertanggungjawab terhadap analisis dan pemeriksaan parasit malaria
7.	Mardi Raharjo Pardi, SKM	Teknisi Ltkayasa Pemula	Bertanggungjawab melaksanakan kegiatan pengumpulan data entomologi di lapangan dan pemeriksaan uji resistensi dan efikasi kelambu LLINa
8.	Jan Lewier	Teknisi Ltkayasa Pemula	Bertanggungjawab melaksanakan kegiatan pengumpulan data entomologi di lapangan dan pemeriksaan uji resistensi dan efikasi kelambu LLINa



KEPALA PUSAT PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN
BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN,

BRETTI MULTIHARTINA

SUSUNAN TIM PENELITIAN

Ketua Peneliti	: Ivon Ayomi, S.Si
Peneliti	: Melda S Suebu, S.Si
	: Samuel Sandy, M.Sc, Apt
	: Hana Kawulur, M.Si
	: Hanna Krismawati, M.Sc
	: Hotma Hutapea, M.Si
Teknisi	: Mardi Rahardjo Pardi, SKM
	: Octofianus Karapa, S.Si
	: Vatim Dwi Cahyani, AMD
	: Irawati Wike, AMK
	: Jan Lewier

ETIK PENELITIAN



KEMENTERIAN KESEHATAN RI BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN

Jalan Peroretakan Negara No. 29 Jakarta 10560 Kotak Pos 1226

Telepon : (021) 4261088 Faksimile : (021) 4243933

Surat Elektronik : sesban@litbang.depkes.go.id Laman (Website) : <http://www.litbang.depkes.go.id>

PERSETUJUAN ETIK (ETHICAL APPROVAL)

Nomor : LB.02.01/5.2/KE. 131 /2016

Yang bertanda tangan di bawah ini, Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan Badan Litbang Kesehatan, setelah dilaksanakan pembahasan dan penilaian berdasarkan Nuremberg Code dan Deklarasi Hensinki, dengan ini memutuskan protokol penelitian yang berjudul :

"Situasi Malaria (Angka Kesakitan, Vektor Potensial, Efektifitas Kelambu LLINs) di Provinsi Maluku"

yang mengikutsertakan manusia sebagai subyek penelitian, dengan Ketua Pelaksana / Peneliti Utama :

Ivon Ayomi, S.Si

dapat disetujui pelaksanaannya. Persetujuan ini berlaku sejak tanggal ditetapkan sampai dengan batas waktu pelaksanaan penelitian seperti tertera dalam protokol dengan masa berlaku maksimum selama 1 (satu) tahun.

Selama penelitian berlangsung, laporan kemajuan (setelah 50% penelitian terlaksana), laporan *Serious Adverse Event/SAE* (bila ada) harus diserahkan kepada KEPK-BPPK. Pada akhir penelitian, laporan pelaksanaan penelitian harus diserahkan kepada KEPK-BPPK. Jika ada perubahan protokol dan/atau perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan kajian etik penelitian (amandemen protokol).

Jakarta, 17-3-2016

Ketua
Komisi Etik Penelitian Kesehatan
Badan Litbang Kesehatan,

Prof. Dr. M. Sudomo

PERSETUJUAN ATASAN

Jayapura , 14 Maret 2017

Kepala Balai Litbang Biomedis Papua



dr. Lidwina Salim, M.Si
NIP. 1964090101996032001

Ketua Pelaksana

Ivon Ayomi, S.Si
NIP. 198202072005012008

An. Ketua Panitia Pembina Ilmiah (PPI)

Dra. Sarwo Handayani, M.Sc
NIP. 196606051991032001

Kepala Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar
Kesehatan



Pretty Multihartina, Ph.D
NIP. 196309271989012001

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, atas berkat, petunjuk dan anugrah-Nya sehingga penulisan Laporan Penelitian yang berjudul “Situasi Malaria (angka kesakitan, vektor potensial, efektifitas kelambu LLINs) di Provinsi Maluku” dapat diselesaikan dengan baik. Penulisan Laporan ini tentunya masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu penulis menerima setiap saran dan kritikan yang konstruktif demi kesempurnaan laporan penelitian ini. Selama proses penyusunan proposal, protokol, kegiatan penelitian hingga penyusunan laporan akhir penelitian, penulis telah banyak menerima bantuan saran baik moril maupun materil dari berbagai pihak oleh karena itu pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. DR.Dr Siswanto, MPH, DTM.sebagai Kepala Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
2. Prof. Muh. Sudomo sebagai Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
3. Dra. Sarwo Handayani, M.Sc sebagai Ketua Panitia Pembina Ilmiah (PPI) dan Pimbing dalam penulisan protokol penelitian dan penyusunan laporan akhir penelitian
4. Pretty Multihartina, Ph.D sebagai Kepala Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan.
5. Drh. Rita Marleta Dewi, M.Kes sebagai pembimbing dalam penulisan protokol penelitian dan penyusunan laporan akhir penelitian.
6. Dr. Lidwina Salim, M.Si sebagai Kepala Balai Litbang Biomedis Papua
7. Dr. Antonius Oktavian sebagai Kepala Seksi Pelayanan Penelitian Balai Litbang Biomedis Papua.

8. Dr. Juliana Ratuanak Sebagai Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Maluku Tenggara Barat (MTB).
9. Dr. Sebagai Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Maluku Barat Daya (MBD).
10. Ibu KA Chandra Utakaman, S.Si, Apt Kepala Bidang Pengendalian Penyakit Menular dan Penyehatan Lingkungan Dinkes Maluku Tenggara Barat.(MTB).
11. Ibu Fien Kepala Bidang Pengendalian Penyakit Menular dan Penyehatan Lingkungan Dinkes Maluku Barat Daya (MBD).
12. Bapak Thomas Lakafin sebagai Kepala Puskesmas Aulusi Kelaan Kecamatan Komormolin.
13. Bapak C.J Batilmurik sebagai Pelaksana tugas harian (Plt) Puskesmas Waturu Kecamatan Nirumas.
14. Bapak.P.Lipury sebagai Kepala Puskesmas Wonreli Kecamatan Kisar.
15. Bapak.Paulus J Agustinus sebagai Kepala Puskesmas Ilwaki Kecamatan Wetar

Jayapura, April 2017

Penyusun

RINGKASAN EKSEKUTIF

Indonesia merupakan salah satu negara yang masih berisiko terhadap malaria. Distribusi malaria di Indonesia dengan intensitas tinggi terdapat di daerah berhutan, terutama Indonesia bagian timur. Kasus malaria terutama dilaporkan dari luar Jawa, yaitu di Provinsi Papua, Maluku, Nusa Tenggara, Kalimantan dan Sumatera. Penyakit malaria masih ditemukan di seluruh provinsi di Indonesia. Berdasarkan *Annual Parasite Incidence* (API), dilakukan stratifikasi wilayah dimana Indonesia bagian Timur masuk dalam stratifikasi malaria tinggi.

Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh informasi situasi malaria (angka kesakitan, vektor potensial, efektifitas kelambu LLINs) di provinsi Maluku. Penelitian ini dilakukan pada dua musim yaitu pada musim angin Timur (Mei – Juni 2016) dan pada musim angin Barat (September – Oktober). Pengambilan data dilakukan di wilayah kerja puskesmas Alusi Kelaan dan Puskesmas Waturu Kabupaten Maluku Tenggara Barat dan Puskesmas Ilwaki dan Puskesmas Wonreli Kabupaten Maluku Barat Daya. Desain penelitian ini adalah potong lintang, dilakukan *Mass Blood Survey* (MBS), survei entomologi, koleksi nyamuk *Anopheles* spp. dewasa dengan menggunakan *man landing collection* dari pukul 18.00-06.00. Konfirmasi vektor malaria deteksi antigen sirkum sporozoit *P. falcifarum* 210 dan *P. vivax* 210 menggunakan metode *Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay* /ELISA (hanya di Kabupaten Maluku Barat Daya). Analisis data secara deskriptif survei habitat *Anopheles* spp. ditemukan di saluran air, bekas perahu dan kolam semi permanen.

Hasil penelitian di Kab. Maluku Tenggara Barat (MTB) dan Kab. Maluku Barat Daya (MBD) diperoleh beberapa jenis *Anopheles* sp di antaranya *An. flavirostris*, *An. barbirostris* group, *An. farauti*, *An. subpictus*. Aktifitas menggigit *Anopheles* spp rata-rata pada musim angin timur mulai pukul 18.00 – 19.00 dan pada musim angin barat aktifitas menggigit pada pukul 20.00-23.00 ditemukan meningkat lebih banyak di luar rumah. Hasil uji dengan teknik

Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay (ELISA) menunjukkan *An. subpictus* sebagai vektor malaria karena terdeteksi mengandung sporozoit *P. vivax* 210. Hasil *bioassay* menunjukkan bahwa kelambu yang digunakan masyarakat di Kabupaten MBD dan Kabupaten MTB memiliki masa pemakaian 2 tahun. Rata-rata pencucian kelambu di Kampung Alusi, Waturu, Wonreli dan Ilwaki adalah 2 – 3 kali. Berdasarkan data hasil uji *bioassay*, sebagian besar kelambu tersebut masih memenuhi standar yang direkomendasikan oleh WHO, yaitu: sampai pencucian 20 kali, kematian nyamuk masih 80%. Uji kerentanan terhadap *An. barbirostris group*, *An. flavirostris* dan *An. subpictus* menggunakan insektisida permetrin dan deltametrin dimana hasilnya dapat membunuh > 98%. Data tersebut didukung oleh data molekuler yang menunjukkan tidak adanya mutasi pada titik V1010 dan L1014.

SITUASI MALARIA (ANGKA KESAKITAN, VEKTOR POTENSIAL, EFEKTIFITAS KELAMBU LLINs) DI PROVINSI MALUKU

Abstrak

Latar belakang: Indonesia merupakan salah satu negara yang masih berisiko terhadap malaria. Penyakit malaria masih ditemukan di seluruh provinsi di Indonesia terutama di Indonesia Timur termasuk Provinsi Maluku.

Metode: Penelitian dilakukan pada bulan Maret - Oktober di wilayah kerja Puskesmas Alusi dan Puskesmas Waturu di Kabupaten Maluku Tenggara Barat (MTB), dan Kabupaten Maluku Barat Daya (MBD) di wilayah Puskesmas Wonreli dan Puskesmas Ilwaki. Desain penelitian potong lintang, dimana dilakukan survey *mass blood survey* (MBS), konfirmasi vektor malaria dengan deteksi antigen sirkum sporozoit *P. falcifarum* 210 dan *P. vivax* 210 menggunakan teknik *enzyme linked immunoabsorbent assay* /ELISA (hanya dilakukan di Kab MBD), resistensi vektor dengan uji suseptibiliti, efektifitas kelambu dengan uji kromatografi gas dan deteksi mutasi gen *knock down resistance (kdr)* dengan teknik *Polymerase Chain Reactions* (PCR). Analisis data dilakukan secara deskriptif.

Hasil: Hasil penelitian di MTB dan MBD diperoleh beberapa jenis *Anopheles* sp di antaranya *An. flavirostris*, *An. barbirostris* group, *An. Farauti* dan *An. subpictus*. *An. flavirostris* dan *An. barbirostris* group memiliki tingkat kepadatan spesies cukup tinggi. Aktifitas menggigit *Anopheles* sp rata-rata pada musim angin timur mulai pukul 18.00 – 19.00 dan pada musim angin barat aktifitas menggigit pada pukul 20.00-23.00, lebih banyak ditemukan di luar rumah. Hasil MBS diperoleh 1 slide positif *Plasmodium vivax* di desa Ilwaki. Hasil konfirmasi vektor malaria dengan ELISA diperoleh *Anopheles subpictus* positif mengandung *P. vivax* 210. Hasil bioassay menunjukkan bahwa kelambu dengan masa pemakaian 2 tahun dengan rata-rata pencucian 2-3 kali masih memenuhi standart keefektifan minimal kelambu oleh WHO. Uji kerentanan untuk *An barbirostris* group, *an flavirostris* dan *An. subpictus* dengan menggunakan insektisida permetrin dan deltametrin dimana hasilnya dapat membunuh > 98% hal ini berarti nyamuk tersebut masih rentan terhadap insektisida permetrin dan deltametrin. Data tersebut didukung oleh data molekuler yang menunjukkan tidak adanya mutasi pada titik V1010 dan L1014.

Kesimpulan: Nyamuk *Anopheles subpictus* merupakan vektor potensial malaria di Kabupaten Maluku Barat Daya, Hasil uji resistensi menunjukkan bahwa insektisida golongan permetrin dan deltametrin masih susceptible/rentan terhadap nyamuk *Anopheles* spp.

Kata Kunci: *Malaria, resistensi, kelambu, Maluku*

DAFTAR ISI

JUDUL PENELITIAN	i
SK PENELITIAN	ii
SUSUNAN TIM PENELITI	v
PERSETUJUAN ETIK PENELITIAN	vi
PERSETUJUAN ATASAN	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
RINGKASAN EKSEKUTIF	x
ABSTRAK.....	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
BAB I PENDAHULUAN	17
A. Latar Belakang	17
B. Rumusan Masalah	20
C. Tujuan Penelitian.....	21
D. Manfaat Penelitian.....	21
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	22
BAB III METODOLOGI	26
A. Kerangka Konsep	26
B. Disain Penelitian.....	31
C. Tempat Dan Waktu Penelitian	31
D. Populasi Dan Sampling.....	31
E. Instrumen Pengumpulan Data	32
F. Bahan Dan Prosedur Pengumpulan Data.....	32
G. Pengolahan Dan Analisis Data.....	51
BAB IV HASIL PENELITIAN	52
BAB V PEMBAHASAN	67
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	77
DAFTAR PUSTAKA	79

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Kegiatan MBS di Desa Ilwaki dan Desa Wonreli, Kabupaten Maluku Barat Daya	54
Tabel 2.	Kondisi fisik dan Lingkungan beberapa habitat jentik <i>Anopheles</i> spp di Desa Kelaan dan Desa Waturu, Kabupaten Maluku Tenggara Barat	55
Tabel 3.	Jenis Jentik yang ditemukan di beberapa tipe perairan di Desa Kelaan dan Desa Waturu Kabupaten Maluku Tenggara Barat	55
Tabel 4.	Kondisi fisik dan Lingkungan beberapa habitat jentik <i>Anopheles</i> spp di Desa Ilwaki dan Desa Wonreli, Kabupaten Maluku Barat Daya	56
Tabel 5.	Jenis Jentik yang ditemukan di beberapa tipe perairan di Desa Wonreli dan Desa Ilwaki, Kabupaten Maluku Barat Daya.....	57
Tabel 6.	Parousity rate (PR) dan peluang hidup vektor dalam satu hari (P) dan perkiraan rata – rata umur nyamuk <i>Anopheles</i>	64
Tabel 7.	Hasil Pengujian Bio Assay di kampung Alusi Kelaan, Waturu dan ILwaki..	65
Tabel 8.	Hasil Uji Gas Kromatografi untuk kampung Alusi Kelaan, Waturu Kisar dan Ilwaki.....	66

DAFTAR GAMBAR

Gambar	1	Peta Lokasi Penelitian Malaria di Kabupaten Maluku Tenggara Barat dan Maluku Barat Daya.....	54
Gambar	2	Peta buffer tempat perkembang-biakan jentik nyamuk <i>Anopheles</i> sp (lokasi tempat pemberhentian ojek di jembatan Weloka dengan Desa Alusi). (Sumber Peta Citra Satelit yang diambil dari Google Earth)	57
Gambar	3.	Peta buffer tempat perkembang-biakan jentik nyamuk <i>Anopheles</i> sp di Desa Waturu (Sumber Peta Citra Satelit yang diambil dari Google Earth)	58
Gambar	4.	Peta buffer tempat perkembang-biakan jentik nyamuk <i>Anopheles</i> sp di Desa Waturu (Sumber Peta Citra Satelit yang diambil dari Google Earth)	59
Gambar	5	Peta Buffer Kasus Malaria dan tempat habitat jentik di Wilayah kerja Puskesmas Wonreli (Sumber Peta Citra Satelit yang diambil dari Google Earth)	60
Gambar	6	Kepadatan nyamuk <i>Anopheles flavirostris</i> , <i>an.barbirostris</i> dan <i>an.farauti</i> pada bulan Mei – Juni 2016 di desa Alusi Kelaan	61
Gambar	7	Kepadatan nyamuk <i>Anopheles flavirostris</i> , <i>an.barbirostris</i> dan <i>an.farauti</i> pada bulan September - Oktober 2016 di desa Alusi Kelaan	61
Gambar	8	Kepadatan nyamuk <i>Anopheles flavirostris</i> , dan <i>an.barbirostris</i> pada bulan Mei – Juni 2016 di desa Waturu	62
Gambar	9	Kepadatan nyamuk <i>Anopheles flavirostris</i> , <i>an.barbirostris</i> dan <i>an.farauti</i> pada bulan September - Oktober 2016 di desa Waturu.....	62
Gambar	10	Kepadatan nyamuk <i>Anopheles subpictus</i> dan <i>an.barbirostris</i> pada bulan Mei – Juni 2016 di desa Ilwaki	63
Gambar	11	Kepadatan nyamuk <i>Anopheles subpictus</i> dan <i>an.barbirostris</i> pada bulan September - Oktober 2016 di desa Ilwaki	63

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Malaria merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat yang dapat menyebabkan kematian terutama pada kelompok risiko tinggi yaitu: bayi, anak balita dan ibu hamil. Selain itu malaria secara langsung menyebabkan anemia dan dapat menurunkan produktivitas kerja. Penyakit ini juga masih endemis di sebagian besar wilayah Indonesia.¹ Malaria adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh parasit Plasmodium yang hidup dan berkembang biak dalam sel darah merah manusia. Penyakit ini secara alami ditularkan melalui gigitan nyamuk *Anopheles ssp betina*.²

Indonesia merupakan salah satu negara yang masih beresiko terhadap malaria terutama Indonesia bagian Timur, 80% Kabupaten/kota masih termasuk kategori endemis malaria dan 45% penduduk yang berdomisili di daerah yang beresiko tertular malaria. terutama di luar Jawa, yaitu: Papua, Maluku, Nusa Tenggara, Kalimantan dan Sumatra.³

Provinsi Maluku merupakan salah satu daerah endemis malaria dengan angka kesakitan Annual Parasite Incidence (API) tahun 2008 sebesar 12,3 0/00 penduduk tahun 2009 sebesar 7,0 0/00 penduduk, tahun 2010 sebesar 10,4 0/00 penduduk dan tahun 2011 sebesar 11,4 0/00 penduduk.⁴ Provinsi Maluku Tengah dan Seram Bagian Timur merupakan daerah endemis malaria tinggi (API > 5 0/00 penduduk). Sedangkan daerah Pulau Buru, Maluku Tengah, Ambon dan Tual merupakan endemis sedang (API 1-5 0/00 penduduk).⁵ Angka kesakitan Annual Parasite Incidence (API) pada tahun 2013 yaitu 56,9 0/00 penduduk di Puskesmas Alusi kelaan dan 108,2 0/00 penduduk di puskesmas Waturu, API

tahun 2014 di puskesmas Alusi 29 0/00 penduduk dan puskesmas Waturu 36,1 0/00 penduduk (Kab. MTB), API tahun 2013 di Puskesmas Ilwaki 57,8 0/00 penduduk, puskesmas Wonreli 26,60/00 penduduk, tahun 2014 API di puskesmas Ilwaki 46,80/00 penduduk dan puskesmas Wonreli 13,6 0/00 penduduk .⁵

Satu metode pengendalian vektor malaria yaitu dengan cara kimiawi adalah menggunakan insektisida melalui penggunaan kelambu berinsektisida. Insektisida adalah bahan kimia dan non kimia yang digunakan untuk mengendalikan serangga.⁶ Menurut World Health Organization (WHO), penggolongan insektisida dikategorikan melalui tingkat persistensi, letal dosis, dan toksisitas terhadap sasaran. WHO menggolongkan insektisida menjadi empat golongan yaitu: Organoklorin, Organofosfat, Karbamat dan Piretroid. Penggunaan bahan insektisida pada kelambu yang dizinkan oleh WHO adalah kelompok Piretroid.⁷

Tingginya prevalensi malaria di Maluku memerlukan tindakan untuk mengontrol dan menekan kasus tersebut dengan beberapa metode antara lain: penggunaan indoor residual spraying (IRS) dan insecticide-treated bed nets (ITNs). termasuk Long-Lasting Insecticidal Nets (LLINs) dan pemberian obat anti Malaria.⁸ Penggunaan metode tersebut tidak luput dari kekurangan antara lain terjadinya resistensi karena penggunaan yang kurang tepat, sehingga perlu dilakukan penelitian tentang vektor malaria dan uji efikasi di Provinsi Maluku.

Penggunaan kelambu dengan bahan kimia piretroid banyak digunakan di negara endemis malaria di Afrika dan juga dipergunakan sebagai IRS. Dua pendekatan pencegahan malaria yaitu dengan LLINs dan IRS selama ini tidak memberikan hasil yang nyata. Penggunaan LLINs di daerah endemis sangat terbatas dan penggunaan IRS untuk mengurangi penyebaran nyamuk, memerlukan banyak pertimbangan termasuk kebijakan pemimpin negara. Uji coba penggunaan IRS dan LLINs di daerah rentan *Anopheles gambiae* sangat efektif terhadap kedua metode tersebut dan tidak ada perbedaan nyata, namun

perbandingan ini berbeda nyata terhadap beberapa daerah lainnya dengan populasi yang resisten terhadap piretroid.⁹

Penggunaan bahan piretroid ini mulai menyebabkan resistensi pada nyamuk khususnya di Negara Afrika dan Asia. Mekanisme resistensi piretroid dengan dua cara yaitu: Melalui metabolit (aktifitas enzim detoksifikasi) dan target sasaran (keterikatan pada titik kontak dengan reseptor gen yang dikenal mutasi *knock down resistance (kdr)*). Resistensi *An. gambiae* terhadap insektisida piretroid menyebar di Negara Afrika Barat dan sejumlah daerah disekitarnya.¹⁰⁻¹¹ Fenomena resistensi telah diamati pada lebih dari 500 jenis serangga di seluruh dunia, 50 diantaranya adalah golongan *Anopheline*.¹² Menurut WHO, resistensi terhadap serangga paling tidak satu insektisida telah diidentifikasi pada 64 negara endemis malaria.¹³

Penelitian untuk mendeteksi mutasi pada gen *kdr* pernah dilakukan terhadap *An. sundaicus*, *An. aconitus*, *Anopheles subpictus* dan *An. Vagus* di Provinsi Lampung pada tahun 2010. Hasil penelitian menunjukkan bahwa mutasi pada posisi 1014 tidak terdeteksi pada keempat jenis *Anopheles* tersebut.¹⁴ Kajian menunjukkan adanya mutasi pada gen *kdr* dengan resistensi terhadap piretroid menyatakan bahwa mutasi pada gen *kdr* telah dideteksi. Pada 13 spesies *Anopheles* (*An.gambiae*, *An.arabiensis*, *An. sinensis*, *An. stephensi*, *An.subpictus*, *An.sacharovi*, *An.culicifacies*, *An. sundaicus*, *An. aconitus*, *An. vagus*, *An. paraliae*, *An. peditaeniatus* and *An. albimanus*).¹⁵

Dalam penelitian ini akan dilakukan uji efikasi kelambu berinsektisida LLINs dalam penanggulangan vektor malaria di Kabupaten Maluku Barat Daya dan Maluku Tenggara Barat, untuk melihat efektivitas insektisida menggunakan teknik uji bioassay dan kuesioner untuk mengetahui karakteristik masyarakat dalam penggunaan kelambu LLINs, uji resistensi *Anopheles* terhadap insektisida menggunakan teknik uji kerentanan (Uji subseptibilitas) *Anopheles ssp* yang resisten terhadap insektisida selanjutnya akan dianalisa secara molekular

untuk mengetahui ada atau tidaknya mutasi pada gen *kdr*, secara spesifik pada posisi asam amino ke 1014. Konsep pemberian kelambu LLINs tanpa diberikan penyuluhan yang memadai tentang cara penggunaan dan perawatan kelambu tentu menyebabkan program penurunan angka prevalensi tidak berhasil dan menimbulkan resistensi pada vektor malaria.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah penggunaan insektisida piretroid yang terdapat pada LLINs masih aktif membunuh vektor malaria di Kabupaten Maluku Barat Daya dan Maluku Tenggara Barat. Dengan pengawasan yang berkala akan memberikan informasi kepada pengambil kebijakan agar dapat digunakan dalam mengambil kebijakan dalam penggunaan jenis insektisida.

Dalam penelitian ini akan dilakukan *mass blood survey* (MBS) di Kabupaten Maluku Barat Daya, untuk melihat angka kesakitan malaria di Kabupaten Maluku Barat Daya (MBD) khususnya di kampung Kisar dan kampung Wetar dengan kasus malaria tinggi. Pemeriksaan MBS ini merupakan penelitian DIPA tahun 2015, Namun karena adanya pemotongan anggaran penelitian tahun 2015 sehingga lokasi penelitian di MBD ditunda untuk penelitian di tahun 2016 maka kegiatan MBS dan uji elisa untuk plasmodium di Kabupaten MBD dilakukan pada tahun 2016. Kegiatan MBS di Kabupaten MTB telah dilakukan bersamaan dengan penelitian yang dilakukan oleh samuel sandy dkk pada tahun 2015 dan hasilnya terjadi penurunan jumlah kasus malaria dikarenakan satu bulan sebelum kegiatan MBS dinkes Kabupaten MTB juga melakukan MBS sehingga masyarakat yang positif malaria langsung diberi pengobatan.

B. Rumusan Masalah

Masih tingginya angka kejadian malaria di Puskesmas Alusi, Puskesmas Waturu, Puskesmas Ilwaki dan Puskesmas Wonreli sehingga diperlukan penilaian transmisi vektor *Anopheles* spp dalam menularkan parasit malaria di Wilayah tersebut juga penilaian terhadap efektifitas LLINs

C. Tujuan Penelitian

1) Tujuan Umum

Menentukan Situasi Malaria (angka kesakitan, vektor potensial, efektifitas kelambu LLINs) di Kabupaten Maluku Barat Daya dan Kabupaten Maluku Tenggara Barat Provinsi Maluku.

2) Tujuan Khusus

- a) Menentukan angka kesakitan malaria di Kabupaten MBD di Provinsi Maluku
- b) Menentukan Bionomik nyamuk tersangka vektor malaria di Kabupaten MBD di Provinsi Maluku
- c) Menentukan vektor potensial di Kabupaten MBD di Provinsi Maluku
- d) Menentukan efektifitas kelambu LLINs di Kabupaten MTB dan Kabupaten MBD, Provinsi Maluku
- e) Menentukan resistensi vektor malaria terhadap insektisida golongan piretroid di Kabupaten MTB dan Kabupaten MBD di Provinsi Maluku
- f) Menentukan mutasi *gen knock down* (kdr) pada vektor malaria di Kabupaten MTB dan Kabupaten MBD, Provinsi Maluku

D. Manfaat Penelitian

1. Tersedianya data dasar mengenai bionomik dan vektor potensial, vektor malaria di Kabupaten MBD sehingga menjadi pertimbangan untuk melakukan intervensi terhadap vektor malaria.
2. Tersedianya data evaluasi efektivitas kelambu LLINs dan resistensi vektor malaria terhadap insektisida golongan piretroid yang digunakan pada kelambu LLINs

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Malaria adalah penyakit infeksi yang disebabkan parasit *Plasmodium sp* yang hidup dan berkembang biak dalam sel darah merah (eritrosit) manusia ditularkan oleh nyamuk *Anopheles spp* betina, dapat menyerang semua orang baik laki-laki ataupun perempuan pada semua golongan umur dari bayi, anak-anak dan orang dewasa.

Malaria merupakan permasalahan kesehatan di masyarakat yang dapat menyebabkan kematian terutama pada kelompok berisiko tinggi, seperti pada bayi, anak balita, dan ibu hamil. Selain itu, malaria secara langsung menyebabkan anemia dan dapat menurunkan produktivitas kerja¹⁶.

World Malaria Report tahun 2011 menyebutkan bahwa malaria terjadi di 106 Negara bahkan 3,3 milyar penduduk dunia tinggal di daerah berisiko tertular malaria. Jumlah kasus malaria di dunia sebanyak 216 juta kasus, dimana 28 juta kasus terjadi di ASEAN. Setiap tahunnya sebanyak 660 ribu orang meninggal dunia karena malaria terutama anak balita (86%), 320.000 di antaranya berada di Asia Tenggara termasuk Indonesia¹⁷.

Penyakit malaria masih ditemukan di seluruh provinsi di Indonesia. Berdasarkan *annual parasite incidence* (API), dilakukan stratifikasi wilayah dimana Indonesia bagian Timur masuk dalam stratifikasi malaria tinggi, stratifikasi sedang di beberapa wilayah di Kalimantan, Sulawesi dan Sumatera sedangkan di Jawa-Bali masuk dalam stratifikasi rendah, meskipun masih terdapat desa/fokus malaria tinggi¹⁸.

Selama tahun 2005-2013, kejadian malaria di seluruh Indonesia cenderung menurun, yaitu 4,10‰ (tahun 2005) menjadi 1,38‰ (tahun 2013). Jumlah pemeriksaan Sediaan Darah (SD) untuk uji diagnosis malaria meningkat, dari 47% (982.828 pemeriksaan SD dari

2.113.265 kasus klinis) pada tahun 2005, menjadi 63% (1.164.405 pemeriksaan SD dari 1.849.062 kasus klinis) pada tahun 2011. Walaupun demikian selama tahun 2011 masih sering terjadi KLB malaria di 9 kabupaten/kota dari 7 Provinsi dengan kasus mencapai 1.139 kasus dengan 14 kasus diantaranya meninggal (CFR = 1,22%)¹⁹.

Pembagian *zoogeografi* jenis nyamuk di Indonesia ada tiga daerah yaitu wilayah Australia, wilayah Oriental, dan wilayah pertemuan Oriental dan Australia. Wilayah Australia memiliki jumlah nyamuk *Anopheles* sp yang banyak (Indonesia Bagian Timur meliputi Papua) dibanding wilayah oriental (Indonesia Bagian Barat) yang jumlahnya sedikit. Sedangkan wilayah pertemuan Oriental dan Australia yaitu Maluku memiliki spesies *Anopheles* sp Oriental dan Australia. Penyebaran nyamuk sangat ditentukan oleh faktor lingkungan yang membentuk suatu ekosistem. Dalam suatu ekosistem tentunya sangat dipengaruhi oleh faktor abiotik, biotik dan kimiawi. Lingkungan abiotik meliputi suhu, kelembaban, intensitas penyinaran matahari, iklim, curah hujan. Sedangkan biotik meliputi vegetasi daratan, vegetasi air kolam, sungai, rawa, adanya predator dan parasit²⁰.

Di Indonesia timur, nyamuk yang terbukti berperan sebagai vektor primer yaitu *An. bancrofti*, *An. koliensis*, *An. farauti*, *An. subpictus*, *An. barbirostris* dan *An. sondaicus* dan yang berperan sebagai vektor sekunder yaitu *An. vagus* (ditemukan adanya oosit pada pembedahan).

Insektisida untuk kesehatan masyarakat adalah insektisida yang digunakan untuk pengendalian vektor penyakit dan hama permukiman seperti nyamuk, serangga pengganggu lain (lalat, kecoak/lipas), tikus, dan lain-lain yang dilakukan di daerah permukiman endemis, pelabuhan, bandara, dan tempat-tempat umum lainnya. Pengendalian vektor penyakit secara umum dikenal dua jenis insektisida yang bersifat kontak/*non-residual* dan insektisida *residual*. Insektisida kontak/*non-residual* merupakan insektisida yang langsung berkontak dengan tubuh serangga saat diaplikasikan. Aplikasi kontak langsung dapat berupa

penyemprotan udara (*space spray*) seperti pengkabutan panas (*thermal fogging*), dan pengkabutan dingin (*cold fogging*) / *ultra low volume* (ULV). Jenis-jenis formulasi yang biasa digunakan untuk aplikasi kontak langsung adalah *emulsifiable concentrate* (EC), *microemulsion* (ME), *emulsion* (EW), *ultra low volume* (UL) dan beberapa Insektisida siap pakai seperti *aerosol* (AE), anti nyamuk bakar (MC), *liquid vaporizer* (LV), *mat vaporizer* (MV) dan *smoke*.

Insektisida residual adalah Insektisida yang diaplikasikan pada permukaan suatu tempat dengan harapan apabila serangga melewati/hinggap pada permukaan tersebut akan terpapar dan akhirnya mati. Umumnya insektisida yang bersifat residual adalah insektisida dalam formulasi *wet table powder* (WP), *water dispersible granule* (WG), *suspension concentrate* (SC), *capsule suspension* (CS), dan serbuk (DP). Cara kerja Insektisida dalam tubuh serangga dikenal istilah *mode of action* dan cara masuk atau *mode of entry*. *Mode of action* adalah cara Insektisida memberikan pengaruh melalui titik tangkap (target site) di dalam tubuh serangga. Titik tangkap pada serangga biasanya berupa enzim atau protein.

Dalam PP no 7 tahun 1973. Beberapa jenis Insektisida dapat mempengaruhi lebih dari satu titik tangkap pada serangga. Cara kerja Insektisida yang digunakan dalam pengendalian vektor terbagi dalam 5 kelompok yaitu:

- 1). mempengaruhi sistem saraf,
- 2). menghambat produksi energi,
- 3). mempengaruhi sistem endokrin,
- 4). menghambat produksi kutikula dan
- 5). menghambat keseimbangan air.

Pengendalian vektor malaria, dapat dilakukan dengan menggunakan insektisida maupun tanpa insektisida. Pengendalian vektor dengan insektisida dapat dilakukan dengan sasaran larva (larva control / larvasidasi) dan sasaran nyamuk (*adult control*)

Pengendalian nyamuk vektor malaria dapat dilakukan:

1) Indoor Residual Spraying(IRS)

Penyemprotan rumah dengan efek residual (IRS=*Indoor Residual Spraying*) adalah suatu cara pemberantasan vektor dengan menempelkan racun serangga tertentu dengan jumlah (dosis) tertentu secara merata pada permukaan dinding yang disemprot. Tujuan penyemprotan adalah untuk memutuskan penularan karena umur nyamuk menjadi lebih pendek sehingga tidak sempat menghasilkan sporozoit di dalam kelenjar ludahnya.

2) Kelambu berinsektisida (ITN's dan LLINs)

Penggunaan kelambu berinsektisida (ITN's dan LLINs), merupakan kelambu yang sebelum digunakan harus dicelupkan ke dalam larutan insektisida, dan dapat dilakukan pencelupan insektisida ulang setiap 6 bulan. Sedangkan LLIN (*Long Lasting Insecticide Net*) merupakan kelambu yang sudah mengandung insektisida sehingga langsung siap digunakan efektif dalam jangka waktu panjang, sekitar 3 sampai 5 tahun tanpa perlu dilakukan pencelupan ulang.

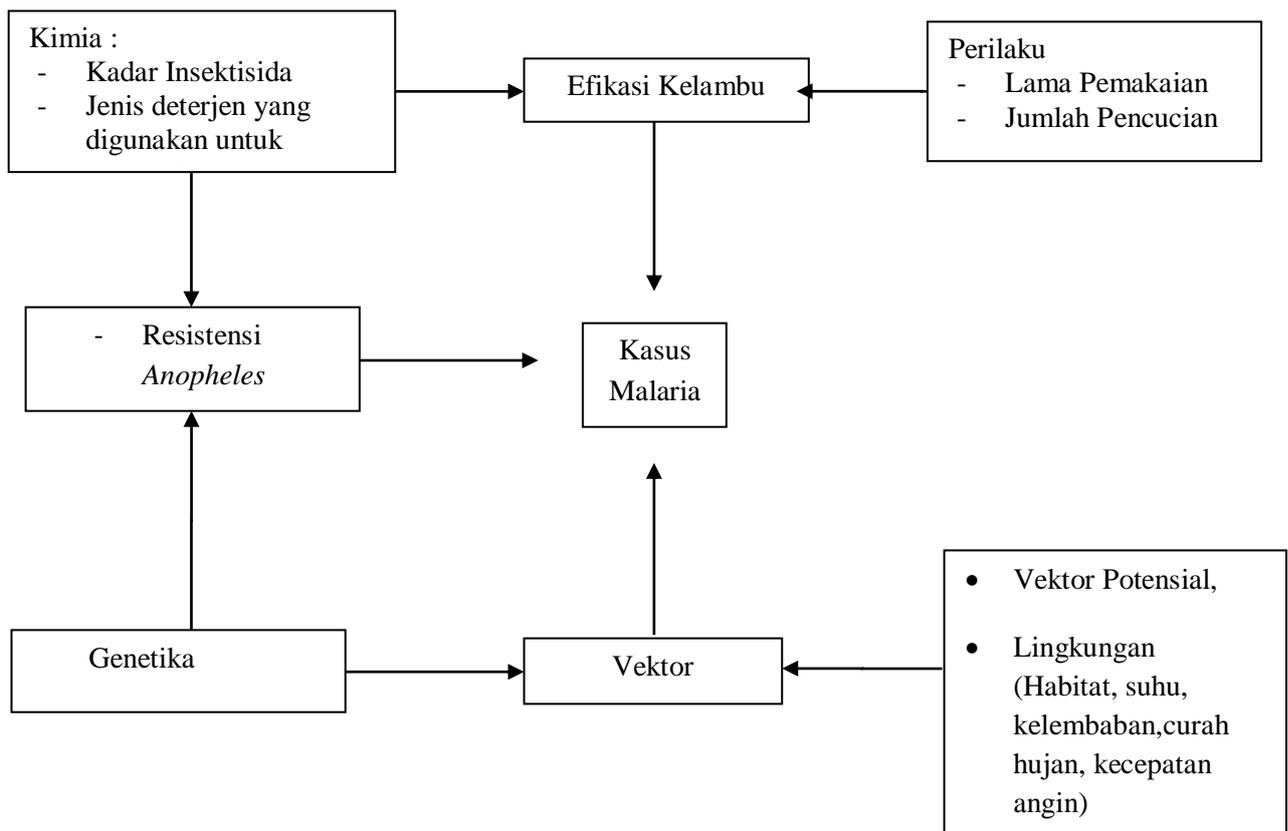
3) Penggunaan Repelen.

Repelan merupakan bahan aktif yang mempunyai kemampuan untuk menolak serangga (nyamuk) mendekati manusia, mencegah terjadinya kontak langsung antara nyamuk dan manusia, sehingga manusia terhindar dari penularan penyakit akibat gigitan nyamuk. Repelan berbentuk lotion dianggap praktis karena dapat digunakan pada kegiatan *out door*.

BAB III

METODOLOGI

A. Kerangka Konsep



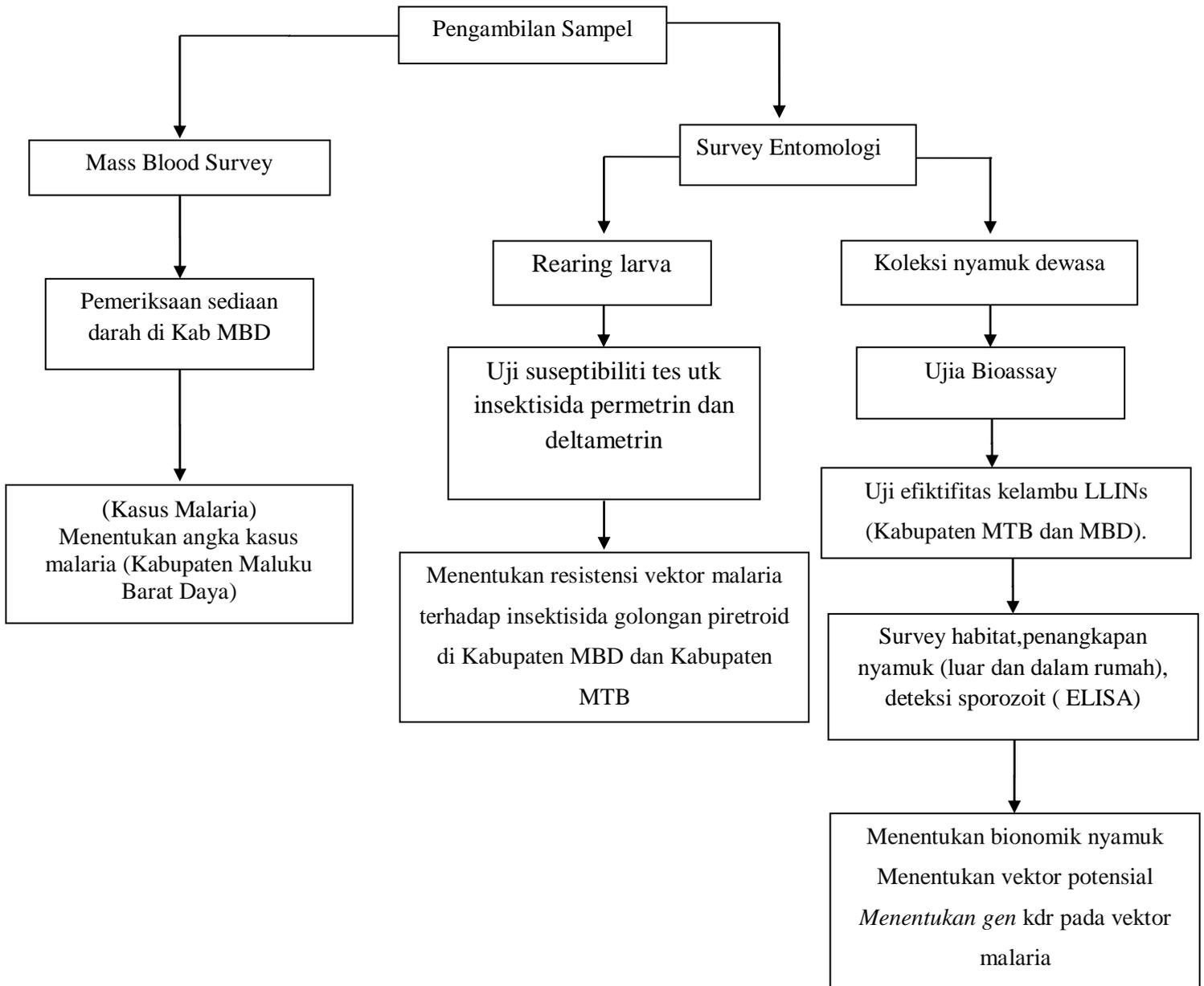
Kasus malaria dimasyarakat dipengaruhi oleh faktor host/inang, lingkungan, agent *Plasmodium* spp, vektor malaria. Keberadaan vektor ditentukan oleh lingkungan habitat dimana vektor hidup meliputi faktor suhu, kelembaban, curah hujan, intensitas cahaya, kecepatan angin. Sedangkan faktor dari vektor malaria sendiri adalah genetik nyamuk *Anopheles* spp dalam merespon adanya pengaruh perubahan lingkungan dan adanya insektisida. Paparan insektisida terhadap vektor malaria dapat menyebabkan terjadinya

resistensi genetik sehingga dalam program pengendalian vektor akan semakin sulit dan menyebabkan peningkatan kasus malaria di masyarakat. Disamping itu kebijakan penggunaan kelambu berisektisida dimasyarakat perlu ditinjau kembali. Penggunaan dan pemakaian kelambu yang tidak sesuai dengan panduan dinas kesehatan menyebabkan masa penggunaan kelambu akan singkat dan menyebabkan resistensi. Dalam menilai apakah kelambu masih efektif diperlukan evaluasi oleh dinas kesehatan sehingga program pengendalian vektor malaria dapat berjalan dengan baik, yaitu dengan melakukan survei entomologi dan *mass blood survei* untuk menemukan positif malaria di masyarakat.

B. Variabel Penelitian

- 1) Variabel bebas : Kimia (kadar insektisida, jenis deterjen yang digunakan untuk mencuci), perilaku manusia (lama pemakaian, jumlah pencucian)
- 2) Variabel Terikat : efikasi kelambu, resistensi *Anopheles*, kasus malaria, vektor
 - ✓ Angka kasus malaria dapat dipengaruhi oleh berbagai macam faktor diantaranya adalah vektor, kelambu dan sifat genetis nyamuk.
 - ✓ Angka kasus malaria sangat terkait keberadaan vektor, yang didukung oleh faktor lingkungan (habitat, suhu, kelembaban, curah hujan dan kecepatan angin).
 - ✓ Angka kasus malaria juga dipengaruhi oleh faktor kelambu yang telah digunakan sebagai salah satu metode pengendalian malaria, yaitu perilaku manusia dalam menggunakan kelambu (waktu pemakaian dan jumlah pencucian), juga bahan kimia yang terkandung dalam kelambu tersebut (kadar dan jenis yang digunakan).
 - ✓ Angka kasus malaria juga dapat dipengaruhi oleh respon vektor terhadap bahan kimia yang digunakan pada kelambu. Paparan bahan kimia pada vektor dapat mengakibatkan munculnya resistensi terhadap bahan kimia tersebut. Resistensi dapat disebabkan oleh mutasi titik pada gen yang bertanggung jawab terhadap perubahan respon vektor terhadap bahan kimia.

C. Alur Penelitian



Pengambilan sampel dalam penelitian ini dilakukan berupa 2 kegiatan yaitu MBS dan survey Entomologi. Untuk kegiatan MBS sampel yang diambil berupa sampel darah untuk melihat angka kesakitan di Kabupaten MBD di Provinsi Maluku.

Untuk kegiatan Entomologi sampel yang diambil berupa jentik dan nyamuk dewasa. Jentik yang diperoleh akan direaring dan selanjutnya akan digunakan untuk uji resistensi vektor

malaria terhadap insektisida golongan piretroid di Kabupaten MBD dan Kabupaten MTB, Sedangkan nyamuk dewasa yang diperoleh selanjutnya akan digunakan untuk efektifitas kelambu LLINs, sebagai data Bionomik nyamuk malaria di Kabupaten MBD, sebagai data vektor potensial di Kabupaten MBD, dan untuk melakukan uji mutasi *gen knock down* (*kdr*) di Kabupaten MTB dan Kabupaten MBD

E. Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi operasional	Ukuran/Skala
1	<i>Mass Blood Survei (MBS)</i>	Survey darah jari pada penduduk untuk pemeriksaan terhadap malaria (secara mikroskopis)	Numerik/rasio
2	<i>Sporozoit rate</i>	Jumlah nyamuk <i>Anopheles ssp</i> betina yang positif CS (sirkum sporozoit) dibagi jumlah nyamuk yang diperiksa	Numerik/rasio
3	<i>Man Biting Rate (MBR)</i>	Jumlah rata-rata gigitan vector <i>Anopheles ssp</i> tiap orang dalam satu malam (cara pengukuran observasi)	Numerik/rasio
4	Curah hujan	Jumlah curah hujan harian dari data BMG (<i>Badan Meteorologi dan Geofisika</i>) di lokasi penelitian	Numerik/rasio
5	Suhu	Suhu udara harian yang tercatat di BMG dan suhu habitat jentik <i>Anopheles ssp</i> (diukur menggunakan thermometer)	Numerik/rasio
6	Kelembaban	Kelembaban udara dilokasi penelitian sekitar habitat jentik <i>Anopheles ssp</i> (diukur menggunakan sling psychrometer)	Numerik/rasio
7	Intensitas cahaya	intensitas sinar yang menyinari habitat jentik <i>Anopheles ssp</i> (diukur menggunakan luxmeter)	Numerik/rasio
8	Bionomik	Perilaku nyamuk <i>Anopheles ssp</i> meliputi <i>Breeding site</i> <i>Resting site</i> <i>Feeding</i> (meliputi indoor dan outdoor) Kepadatan jentik <i>Anopheles ssp</i> Kepadatan vector <i>Anopheles ssp</i> (cara pengukuran observasi)	Numerik/rasio
9	Kecepatan angin	Kecepatan angin berhembus di lokasi penelitian (diukur menggunakan anemometer)	Numerik/rasio
11	EIR (WHO, 2003)	Nilai MBR (<i>man biting rate</i>) x sporozoit rate	Numerik/rasio

F. Disain Penelitian

Survey yang dilakukan secara *cross sectional* bersifat deskriptif eksploratif

G. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Kabupaten Maluku Barat Daya (MBD) dan Maluku Tenggara Barat (MTB) pada bulan Maret – Oktober 2016 (selama 8 bulan)

H. Populasi dan Sampling

Populasi dan sampel (Kelambu)

Populasi adalah seluruh penduduk yang menggunakan kelambu di Kabupaten Maluku Tenggara Barat dan Maluku Barat Daya

Sampel adalah 2 (dua) kampung di Maluku Tenggara Barat dan 2 (Dua) kampung di Maluku Barat Daya dan setiap kampung dipilih secara acak 20 (Dua Puluh) Rumah tangga untuk melakukan pengumpulan data survey dan pengambilan kelambu untuk uji efikasi kelambu LLINs,

a. **Kriteria Inklusi**

1. Masyarakat yang menggunakan kelambu LLINs
2. Bersedia ikut dalam penelitian dengan menandatangani informed consent

b. **Kriteria Eksklusi**

1. **Responden tidak ditempat**

Populasi dan sampel (MBS)

Populasi adalah seluruh masyarakat yang berada di Kampung Kisar dan Kampung Wetar di Kabupaten Maluku Barat Daya

Sampel adalah Masyarakat yang berada di 2 (dua) kampung di Kabupaten Maluku Barat Daya yaitu Kampung Wetar dan Kampung Kisar dan setiap kampung diambil sebanyak 200 sampel

a. **Kriteria Inklusi**

1. **Responden usia diatas 1 bulan**
2. **Bersedia ikut dalam survei pemeriksaan darah jari malaria (*mass blood survey*) dengan menandatangani persetujuan setelah penjelasan (*informed consent*)**

b. **Kriteria eksklusi**

- 1) **Responden menderita sakit berat**

Populasi dan Sampel (Nyamuk)

Populasi adalah seluruh nyamuk yang berada di Kabupaten Maluku Tenggara Barat (MTB) dan Kab. Maluku Barat Daya (MBD)

Sampel adalah Nyamuk *Anophelessp* yang tertangkap di Kampung Alusi dan Waturu Kabupaten Maluku Tenggara Barat (MTB) dan kampung Kisar dan Wetar Kabupaten Maluku Barat Daya (MBD)

I. Instrumen Pengumpulan Data

1. Pengukuran persepsi masyarakat terhadap kelambu berinsektisida LLINs dilakukan dengan menggunakan kuesioner terstruktur
2. MBS dengan cara mengambil sediaan darah pada ujung jari manis sebelah kiri kemudian dilakukan pewarnaan dan diperiksa menggunakan mikroskop.
3. Uji resistensi insektisida terhadap vektor malaria menggunakan metode *impregnated paper* dan uji bioassay metode cone
4. Pemeriksaan Sporozoit terhadap vektor malaria menggunakan metode ELISA
5. Deteksi *gen knock down (kdr)* mutasinya.

J. Bahan dan Prosedur Pengumpulan Data

a) Alat Penelitian

1. Salinometer

2. pH meter
 3. Anemometer
 4. Lux meter
 5. *Sling Psychrometer*
 6. GPS
 7. Cidukan
 8. Aspirator
 9. Peper cup
 10. Kain tile
 11. Dipper
 12. Lampu senter
 13. Counter
 14. Cone uji bioassay
 15. Papan akrilik
 16. *ELISA Washer*
 17. *ELISA reader*
 18. Mikroplate ELISA
- b) Bahan penelitian
1. Silica gel
 2. Tabung ependorf
 3. *MAB Capture*
 4. Larutan anti IgG manusia (*affinity purified antibody to human IgG H+L*)
 5. Substrat ABTS
 6. Konjugat peroksidase (*peroksidase labelled affinity purified antibody to human IgG H+L*)

7. *Human Immunoglobulin calibrator*
8. Kertas insektisida WHO
9. PBS pH 7,4
10. Tween20,
11. 2,5 N HCL.
12. PBS (pH 4 Dulbeco' 10 x sigma Chem. D557),
13. Blocking buffer
14. Casein
15. ABTS peroksidase substrat,
16. NP-40,
17. Tween 20,
18. Kloroform
19. Alkohol
20. Xylol
21. Enthellan

Cara Kerja:

1. Pengukuran kadar garam

Pengukuran kadar garam dilakukan dengan alat salinometer, kelembaban menggunakan hygrometer, suhu menggunakan termometer, dan intensitas cahaya menggunakan lux meter. Pada lokasi penelitian serta melakukan pemetaan distribusi penggunaan kelambu LLINs dan pemetaan kasus malaria pada masyarakat di Kabupaten Maluku Barat Daya dan Maluku Tenggara Barat menggunakan GPS.

2. MBS (Mass Blood Survey)

Mass Blood Survey akan dilakukan dengan mengambil sediaan darah tepi masyarakat di daerah endemis malaria dan melakukan pemeriksaan mikroskopis parasit malaria untuk

menentukan jumlah kasus. Pada proses MBS dilakukan juga pemetaan koordinat sampel rumah tangga menggunakan GPS untuk data pendukung analisis epidemiologi malaria.

Pemeriksaan slide malaria dengan mikroskop:

- a) Siapkan alat autoklik dan lancet steril, *alcohol swab* dan kapas kering.
- b) Jarum lancet dipasang pada alat autoklik kemudian diatur skala kedalaman jarum lanset sesuai skala yang tertera pada autoklik.
- c) Ujung jari manis sebelah kiri diusap dengan *alcohol swab* kemudian dikeringkan dengan kapas kering lalu digunakan alat autoklik untuk menusuk ujung jari.
- d) Darah sebanyak 1 – 2 tetes pada slide yang telah diberi kode responden, kemudian dibuat diameter lingkaran 1 – 1,5 cm. diusahakan sediaan tidak terlalu tebal caranya dengan menempatkan kertas koran dibagian belakang slide, kalau tulisan pada koran masih dapat terbaca maka sediaan sudah bagus.
- e) Slide yang mengandung sediaan darah dikeringkan pada suhu kamar, dan usahakan agar terhindar dari kurumunan lalat/serangga dan terpaan debu, setelah itu dilakukan pewarnaan menggunakan giemsa
- f) Slide yang telah diwarnai dengan giemsa kemudian dibaca menggunakan mikroskop dengan pembesaran 10 x 100 menggunakan minyak emersi.

3. Spesies dan Bionomik Vektor

- a) Tempat Istirahat Nyamuk.

*Hand Collection of indoor-resting mosquitoes*²¹.

Umumnya nyamuk vektor malaria spesies *Anopheles* beristirahat dalam rumah. *Hand collection of indoor-resting mosquitos* memberikan informasi mengenai lokasi dimana nyamuk sering beristirahat, resting density, perubahan kepadatan vektor, penggunaan

untuk uji kerentanan dan bioassay dan digunakan dalam pengamatan mortaliti vektor akibat penggunaan insektisida dan ITNs.

Penangkapan nyamuk dilakukan jam 18.00 – 06.00 dengan jumlah penangkap 4 orang dengan pembagian didalam rumah 2 orang dan di luar rumah 2 orang. Lama penangkapan tiap 40 menit untuk *landing collection*, 10 menit penangkapan di dinding dalam rumah dan luar rumah, 10 menit penangkapan di sekitar kandang pada pagi hari dilakukan penangkapan nyamuk didalam rumah (06.00-08.00) oleh 2 orang petugas (tiap 15 menit/rumah) kurang lebih 10 rumah.

Memelihara nyamuk agar tetap hidup di lapangan sebelum dibawa ke laboratorium.

1. Kapas direndam pada larutan gula 5 - 8%, kemudian diperas sehingga larutan gulanya berkurang lalu ditempatkan di bagian atas *paper cup*.
2. *Paper cup* diletakan dengan posisi tegak pada box.
3. *Paper cup* ditutupi dengan kain basah sebagai pelembab selama perjalanan menuju laboratorium.
4. *Paper cup* yang berisi nyamuk dari kontaminasi bahan insektisida dan gangguan semut.
5. Sebelum dibawa ke laboratorium, *paper cup* dikemas secara aman untuk mengurangi guncangan selama dalam perjalanan.

b) *Outdoor collection of adult mosquitoes*²¹

Pengumpulan spesies nyamuk di luar rumah diperlukan untuk mengukur dampak dari pengendalian vektor dengan memberikan informasi mengenai kebiasaan nyamuk istirahat diluar rumah atau adanya perubahan jumlah nyamuk yang istirahat diluar rumah akibat program IRS dan ITNs. Penangkapan nyamuk istirahat dilakukan pada pagi – siang hari, habitat aslinya (saluran irigasi, sungai, selokan, vegetasi/semak)

oleh 2 orang petugas. Penangkapan nyamuk disekitar kandang sapi dilakukan oleh 1 orang (15 menit/kandang).

c) Survei Habitat

Survei jentik dan pupa nyamuk dilakukan pada tempat genangan air yang potensial sebagai tempat perkembangbiakan nyamuk di daerah penelitian dan untuk mengetahui habitat nyamuk pra dewasa. Untuk menghitung kepadatan jentik dilakukan cara pencidukan sesuai standar WHO 2002. Pencidukan dilakukan menggunakan *dipper plastic* (gayung = 350 ml) 10 cidukan (dilakukan acak) disetiap tempat perindukan. Jentik yang diperoleh kemudian dihitung kepadatannya, kemudian diberi label dan dipelihara di laboratorium untuk diidentifikasi. Koordinat lokasi tempat pencidukan jentik/jentik akan di data menggunakan GPS.

Cara pengumpulan jentik:

- 1) Peralatan yang biasanya digunakan untuk mengumpulkan jentik nyamuk antara lain: cidukan, nampan, pipet plastic, vial, kapas, pensil, senter. Apabila specimen jentik digunakan untuk pengujian insektisida maka dibutuhkan wadah botol yang besar dengan bagian lubang mulut yang lebar.
- 2) Gayung plastik didekatkan secara hati-hati pada permukaan air di lokasi cidukan membentuk sudut 45°.
- 3) Saat gayung dicidukan ke dalam air, gayung tidak langsung diangkat karena menyebabkan jentik terganggu dan jentik akan tenggelam ke dasar kolam. Jika terjadi hal demikian tunggu 1 – 2 menit sampai jentik naik ke permukaan air dan kemudian lanjutkan pengangkatan.
- 4) Lakukan dengan mengitari kolam habitat jentik, dan lakukan pencidukan di permukaan kolam air.

- 5) Angkat gayung dari kolam perlahan-lahan, dan pastikan tidak menumpahkan air yang mengandung jentik dan pupa.
- 6) Gayung dibiarkan beberapa saat sampai jentik dan pupa naik dipermukaan air, kemudian jentik dan pupa dikumpulkan dengan cara menggunakan pipet plastik dan dipindahkan ke vial atau botol.
- 7) Jangan menumpahkan kembali air yang digayung pada kolam habitat karena dapat menyebabkan jentik dan pupa akan terganggu.
- 8) Dihitung jumlah cidukan pada tiap habitat jentik dan pupa, hal ini dilakukan untuk menghitung kepadatan jentik pada setiap habitat.

d) Cara Pemindahan Jentik dari Lokasi ke Laboratorium:

1. Semua jentik di tempatkan pada botol atau vial dan diberi label, label harus ditulis menggunakan pensil. Jangan menggunakan balpoin atau yang menggunakan tinta karena akan larut di air.
2. Jentik dan pupa yang dikumpulkan harus tetap hidup dan tidak rusak sampai tiba di laboratorium. Tutup botol atau vial harus rapat sehingga media air tidak tumpah.
3. Pastikan terdapat udara di dalam botol dan vial sekitar 1-2 cm dari permukaan air didalam vial terhadap tutupnya sehingga jentik dan pupa dapat bernapas untuk beberapa jam. Jika terdapat udara dalam jumlah besar akan menyebabkan gangguan selama dalam perjalanan yang menyebabkan kerusakan khususnya hilangnya rambut pada jentik dan pupa.
4. Jika waktu tempuh lokasi habitat dari laboratorium lebih dari 2 – 3 jam, buka tutup botol/vial setiap 2 jam untuk memberikan udara segar pada jentik dan pupa.
5. Jika jentik yang digunakan untuk keperluan uji kerentanan maka diperlukan labu vacuum yang besar atau wadah penyimpanan yang lebih besar.

e) Aktifitas Menggigit Nyamuk ^{7,23}

Untuk mengetahui aktifitas menggigit dari nyamuk digunakan manusia sebagai umpan yang dilakukan di dalam dan luar rumah dengan jumlah penangkap 2 orang. Juga mengamati aktivitas menggigit hewan ternak sapi atau kambing ¹⁰⁾.

$$\text{Man Biting Rate} = \frac{\text{Jumlah Nyamuk Yang Didapat}}{\text{Jumlah Penangkapan} \times \text{Jumlah Waktu}}$$

$$\text{Man Hour Density} = \frac{\text{Jumlah Nyamuk Yang Didapat}}{\text{Jumlah Penangkapan} \times \text{Jumlah Waktu (Jam)}}$$

f) Penentuan Umur relative Nyamuk ^{7,23}

Untuk mengetahui umur nyamuk di alam dilakukan pembedahan ovarium nyamuk kaitannya dengan penetapan vektor dan kapasitas vektor. Metode yang digunakan adalah metode WHO di mana nyamuk yang fed dimatikan menggunakan kloroform dan diletakan di atas kaca objek. Bagian ujung abdomen ditetesi garam fisiologis. Bagian dada ditusuk dengan jarum bedah dan jarum lain menusuk segmen ke enam dan ketujuh. Secara perlahan jarum pada abdomen digeser ke arah kandal sampai segmen abdomen dan isi perut di tarik keluar, kemudian dipisahkan isi perut dari masing-masing ovary. Ovari yang diletakan pada kaca objek diberi aquadest untuk melihat *tracheolus skein*, sedangkan ovari yang ditetesi garam fisiologis untuk melihat isi telur dan ada tidaknya dilatasi pada tangkai ovariole. Melalui metode ini dapat ditentukan umur nyamuk melalui kondisi parus dan maliparus serta menghitung proporsi parus:

$$\text{Proporsi Parus} = \frac{\text{Jumlah Nyamuk Parus}}{\text{Jumlah Nyamuk Parus dan Nuliparus}}$$

g) Pemeriksaan sporozoit ²²

Beberapa nyamuk *Anopheles ssp.* yang diperoleh dari daerah penelitian dilakukan uji ELISA untuk mengetahui adanya kandungan sporozoit berdasarkan spesies plasmodium.

Uji ELISA untuk mendeteksi keberadaan sirkum sporozoit protein antigen. Untuk mendeteksi keberadaan sporozoit digunakan antibodi monoklonal Pf Pemeriksaan ELISA untuk mendeteksi vektor. *Plasmodium falciparum* / Pf dan *Plasmodium vivax* /Pv menggunakan teknik sandwich ELISA dimana Ab terikat pada plate yang nantinya akan mendeteksi adanya protein antigen sporozoit

Cara kerja:

1) Sampel nyamuk.

Nyamuk diuji adalah nyamuk *Anopheles ssp* betina ditangkap saat istirahat dan nyamuk yang hinggap/menggigit manusia di dalam dan di luar rumah pada malam hari dan pagi hari serta menggigit orang di dalam/luar rumah pada malam hari. diidentifikasi nyamuk untuk menentukan spesiesnya, nyamuk dipotong menjadi dua bagian dengan menggunakan bantuan pisau dan jarum, guna memisahkan bagian thorax-kepala dan abdomen. Untuk mengurangi terjadinya *false positif* (positif palsu) maka yang digunakan hanya bagian thorax-kepala (protoraks) yang diuji secara ELISA

2) Persiapan larutan ELISA sporozoit ²¹.

Untuk pemeriksaan ELISA terhadap sporozoit *Plasmodium* pada nyamuk, dipersiapkan larutan-larutan ELISA sebagai berikut :

- a) *Phosphate Buffer Saline* (PBS), pH 7,2 (Dulbecco's 10 x 1L, Sigma Chemical Co. # D5773) yang disimpan pada suhu 4⁰C, dicampur dalam 1 liter aquades.
 - b) *Blocking Buffer* (BB), terbuat dari casein (Sigma, C-0376, C-3400). BB casein dibuat dengan komposisi 0,5 % casein (2,50 g), 0,1 N Na OH (50,00 ml) dan PSB, pH 7,4 (450 ml). Suspensi casein dalam 0,1 N NaOH dididihkan, setelah larut ditambahkan PSB secara perlahan dan dibiarkan sampai dingin, pH diatur dengan menambahkan HCl.
 - c) *Blocking Buffer / Nonidet P-40* (BB/NP-40). Larutan ini dipakai untuk menggerus nyamuk yang diuji, terdiri dari 1 ml BB + 5 µl NP-40, keduanya dicampur sampai NP-40 larut dalam BB.
 - d) Larutan pencuci (PBS/Tween 20). Dimasukan 0,5 ml Tween 20 ke dalam 1 liter PSB, dicampur sampai homogen.
 - e) Larutan substrat, terdiri dari campuran 2,2-azinodi (3-ethylbenzthiazolin sulfonate 6) atau ABTS (larutan A) dan Hidrogen peroksida (larutan B) dengan perbandingan 1:1 yang digunakan 100 µl/sumuran.
 - f) Kontrol positif, merupakan protein CS rekombinan yang dimurnikan dari *P. falciparum* (*Pf-PC*) dan *P. vivax* (*Pv210-PC*) akuades (*Mab P. f*, KPL. Lot No. WE 092, Cat. No. 37.00.24.2) dan *P. vivax* 0,5 µl/vial (*Mab P.v-210*, KPL. Lot No. KA 52-5) serta *peroxidase-conjugated MAb P. f* 0,25 ug (KPL. Lot No. WE 092, Cat No. 37.00.24.4) dan *peroxidase-conjugated MAb P. v-210* 0,2 µg (KPL. Lot No. KA 51-5)
- 3) Persiapan sampel / penghancuran nyamuk ^{7,8,21}
- Nyamuk yang diperiksa secara individu atau dapat juga dikelompokkan / dipooled (5-10 ekor) ditempatkan dalam tabung eppendorf (*eppendorf tube*)

berukuran 1,5 ml yang berisi campuran 50 µl larutan BB dan NP-40. Nyamuk dihancurkan/ digerus dengan alat penumbuk (pestel) yang digerakkan otomatis memakai batu baterai (*electric grinder*). Setelah nyamuk hancur, ditambahkan 2 x 125 µl larutan BB, sehingga volume campuran bahan dalam masing-masing tabung eppendorf menjadi 300 µl. Homogenat nyamuk disimpan pada suhu – 20⁰C sampai saatnya untuk diuji. Pengujian sporozoit dilakukan pada sumuran mikropelat yang terpisah berdasarkan jenis *Plasmodium* yang digunakan.

- 4) Uji *ELISA* sporozoit *Plasmodium* pada nyamuk *Anopheles ssp.* (Verifikasi Vektor)⁸
 - a. *Coating* mikropelat dengan 50 µl larutan antibodi monoklonal (*Mab*), dipisahkan berdasarkan spesies sporozoit yang diuji, yaitu *Mab p. f* 0,1 µg/50 µl PBS dan *Mab P. v* 210 0,025 µl/50 µl PBS. Plat ditutup dengan *aluminium foil* dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit.
 - b. *Sumuran* diaspirasi dan diisi dengan BB 200 µl/sumuran, inkubasi selama 60 menit (tertutup).
 - c. *Sumuran* diaspirasi, 50 µl homogenat nyamuk dimasukkan ke dalam sumuran demikian juga untuk kontrol positif dan negatif. Inkubasi selama 2 jam (tertutup).
 - d. *Sumuran* dicuci dengan PBS/Tween 20 sebanyak 2 kali.
 - e. Konjugat (larutan *peroxidase-conjugated Mab*) dimasukkan ke dalam masing-masing sumuran (0,050 µl/50 µl BB untuk *peroxidase-conjugated Mab P. f* dan *peroxidase-conjugated Mab P. v-210*). Inkubasi 1 jam (tertutup).
 - f. *Sumuran* dicuci 3 kali dengan PBS/Tween 20.
 - g. 100 µl larutan substrat (campuran ABTS dan H₂O₂) dimasukkan ke dalam masing-masing sumuran, ditutup, diamati hasilnya setelah 30 menit.

- h. Hasil positif secara visual akan terlihat menunjukkan warna hijau dan untuk mengetahui nilai absorben / *absorbance value* (AV) secara kuantitatif dapat dibaca dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 405 nm. Intensitas warna sebanding dengan jumlah antigen CS yang terdapat dalam sampel.
- i. Sampel yang positif harus dikonfirmasi / diuji ulang, dibandingkan dengan kurva standar ekuivalensi antigen CS (dari kontrol positif) terhadap sporozoit *P. falciparum* atau *P. vivax*. Pembuatan kurva kontrol positif dilakukan dengan membuat seri pengenceran mulai dari konsentrasi 100; 50; 25; 12; 6; 3 dan 1,5 pg/50 ul BB, masing-masing 3 kali ulangan. Pada plat yang sama diletakan pula kontrol negatif dan sampel positif yang diuji ulang. Prosedur pengujian sama dengan ELISA sporozoit, mulai dari coating mikroplat sampai dengan pembacaan hasil di ELISA reader.

$$\text{Sporozoite rate (SR)} = \frac{\text{JUMLAH SPESIES (X) YANG MENGANDUNG SPOROZOIT}}{\text{JUMLAH SPESIES (X) YANG DIBEDAH}} \times 100\%$$

5) Uji Pakan Darah menggunakan metode ELISA

Uji pakan darah dilakukan dengan metode ELISA untuk memperoleh ketepatan dalam menentukan sensitifitas dan spesifisitas jenis darah yang dihisap oleh nyamuk (darah manusia/hewan). Nyamuk *Anopheles* yang akan diidentifikasi pakan darahnya adalah dalam kondisi perut kenyang darah (*blood fed* atau *half gravid*)

Cara Kerja:

- a) Bagian perut nyamuk dipisahkan dari kepala-dada (Protoraks). Darah dalam bagian perut setiap spesimen nyamuk *Anopheles* dipencet pada kertas filter Whatman diameter 11 cm (yang sudah dibagi menjadi 16 bagian).

- b) Setiap bagian kertas filter Whatman (berisi sediaan darah sampel) dimasukkan ke dalam 1 ml PBS (minimal dalam waktu 1 jam sebelum diuji atau dapat disimpan dalam refrigerator (kulkas) untuk pengujian lebih lanjut).
- c) Sumuran mikropelat ditambahkan 100 μ l larutan anti IgG manusia (4 μ l/ml PBS) lalu mikropelat ditutup dengan *aluminiumfoil*, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 4⁰C.
- d) Sumuran diaspirasi terlebih dahulu kemudian ke dalam sumuran dimasukkan 200 μ l BB dan di inkubasi selama 1 jam. Sumuran diaspirasi kemudian mikropelat ditepuk-tepukkan pada kertas tisu untuk menghilangkan sisa-sisa buffer.
- e) Dalam sumuran dimasukkan 100 μ l homogenat, demikian pula pada kontrol positif dan kontrol negatif. Pada kontrol positif, ditambahkan 100 μ l IgG (5 μ l/500 ml PBS). Pada kontrol negatif digunakan nyamuk *Anopheles ssp* hasil koloni laboratorium yang tidak menghisap darah.
- f) Setelah selesai mikropelat ditutup dan diinkubasi selama 2 jam. Selanjutnya sumuran diaspirasi dan dicuci dengan PBS/Tween dua kali dan dikeringkan.
- g) Tambahkan 100 μ l konjugat peroksidase ke dalam sumuran, (2 μ l /1 ml BB Tween) dan diinkubasi selama 1 jam. Sumuran diaspirasi dicuci dengan PBS/Tween sebanyak tiga kali ulangan.
- h) Tambahkan 100 μ l larutan substrat ABTS (Substrat disiapkan dengan mencampurkan ABTS dan H₂O₂ perbandingan 1:1). Setelah penambahan substrat mikropelat ditutup dan ditempatkan di ruang gelap selama 20 menit. Untuk menghentikan reaksi ditambahkan 1 tetes 2,5 N HCl pada tiap-tiap sumuran.

- i) Pembacaan hasil dilakukan secara visual dan kuantitatif. Pembacaan secara visual pada kontrol positif akan menunjukkan warna hijau sedangkan pada kontrol negatif tidak berwarna. Penilaian secara kuantitatif dengan membaca nilai *absorbance value* (AV) pada *ELISA reader* dengan panjang gelombang 405 nm setelah 20 menit.
- 6) Uji Bioassay
- a) Uji efikasi insektisida yang terpapar di permukaan
 - b) Corong plastik pada bagian lingkaran tepinya diberi tip perekat
 - c) Corong plastik disemprotkan pada bidang permukaannya (dibuat variasi dosis: rendah, menengah, tinggi)
 - d) Tempelkan kertas karton bebas insektisida pada dinding dan kemudian lekatkan corong pada karton tersebut (digunakan sebagai control)
 - e) Pindahkan 10 ekor nyamuk pada setiap cone dan letakan kapas secukupnya pada sisi corong yang terbuka (gunakan aspirator secara terpisah untuk kontrol)
 - f) Setelah 30 menit, secara hati-hati pindahkan nyamuk dari corong dan pindahkan secara terpisah (berikan label) pada masing-masing paper cup.
 - g) Hitung jumlah nyamuk yang mati (*knok down*) pada akhir paparan, tetapi jangan memindahkan nyamuk yang masih keliatannya mati, beberapa diantaranya akan baik kembali.
 - h) Tempatkan kapas basah di atas paper cup, kemudian ditempatkan pada box kayu dan ditutupi kain basah
 - i) Setelah 24 jam, hitung jumlah nyamuk yang mati dan hitung persentase kematian tiap paparan dan juga control

- j) Jika mortalitas control 5-20% persentase mortalitas harus dikoreksi menggunakan rumus Abbott's. jika mortalitas control lebih 20% experiment harus diulang.

$$\text{Control Mortaliti (C)} = \frac{\text{Jumlah Nyamuk Yang Mati}}{\text{Total Jumlah Nyamuk Kontrol tube}}$$

$$\text{Exposure Mortaliti(E)} = \frac{\text{Jumlah Nyamuk yang Mati}}{\text{Total jumlah Nyamuk pada tube yang mengandung insectisida}}$$

$$\text{Abbot's Formula Corrected exposure Mortaliti (\%)} = \left(\frac{E-C}{100-C} \right) \times 100$$

- 7) Uji efikasi (Bioassay) untuk *Insecticide-treated bed nets* dan LLNs pada Vektor Malaria

- Untuk uji metode cone WHO digunakan *Non blood fed* nyamuk sebanyak 5 ekor agar lebih leluasa kontak dengan kelambu yang diuji.
- Dipergunakan empat cone yang sama pada kelambu uji dengan replikasi sebanyak 10 kali, dengan tiap cone 5 ekor nyamuk dengan total nyamuk 50 ekor dengan lama waktu kontak 3 menit.
- Setelah exposure nyamuk ditempatkan pada gelas plastik 150 ml (10 ekor nyamuk tiap gelas) kemudian diberi makan sukrosa, dan ditempatkan pada suhu 27 C dengan kelembaban 80%.
- Di catat persentase knock down setelah 60 menit dan persentase setelah 24 jam²¹.

$$\text{Control Mortaliti (C)} = \frac{\text{Jumlah Nyamuk Yang Mati}}{\text{Total Jumlah Nyamuk Kontrol tube}}$$

$$\text{Exposure Mortaliti(E)} = \frac{\text{Jumlah Nyamuk yang Mati}}{\text{Total jumlah Nyamuk pada tube yang mengandung insectisida}}$$

$$\text{Abbot's Formula Corrected exposure Mortaliti (\%)} = \left(\frac{E-C}{100-C} \right) \times 100$$

- 8) Uji kadar insektisida pada kelambu LLINs (*Long Lasting Insecticide Nets*) Untuk mengetahui kadar Insektisida pada LLINs digunakan uji Gas Kromatografi

Langkah kerja uji Gas Kromatografi (GC) = *High Pressure Liquid Chromatograph* (HPLC). Reagen atau peralatan yang diperlukan:

- a) Deltametrin standar : standar referensi
- b) Aseton: HPLC
- c) Dibutylphtalate: Analisis
- d) Pengocok: Yamato
- e) Ultrasonik (ultra) untuk mengultrasonik fase gerak dan sampel yang akan masuk dalam kolom sehingga udara tidak ada dan tidak mengakibatkan sumbatan dalam kolom.
- f) HPLC : Aligent 1100
- g) Pelarut untuk ekstrasi: Aseton 80 %
- h) Cairan standar internal : 0,05% dibutylphtalate dalam campuran ekstrasi
- i) Solution deltametrin standart: 0,05% deltametrin standar dalam campuran ekstrasi

Persiapan Sampel

- a) Masing-masing kelambu dipotong 2-3cm
- b) Masukkan 0,3 gram kelambu (mengandung 50 mg deltametrin) ke dalam botol gelas yang berisi 50 ml air
- c) Tambahkan 1 ml cairan standar internal (dibutylphtalate)
- d) Tambahkan 14 ml hasil ekstrasi
- e) Kocok dengan kuat menggunakan pengocok (yamato) selama 30 menit
- f) Saring campuran sampel kemudian filtrasi hasil saringan disiapkan untuk injeksi.

Persiapan larutan kalibrasi

- a) Masukkan 1 ml deltamethrin standar dengan menggunakan pipet kedalam botolgelas berisi 50 ml air
- b) Tambahkan 1ml larutan standar internal
- c) Tambahkan 14 ml axtrasi

- d) Campur larutan untuk membuat larutan kalibrasi

Kondisi Kerja

- a) Kolom : Lichrosob SI-60, 25 cm x 4,6 mm, 5 μ m
b) Detector : Ultra Violet
c) Fase Gerak : 94% Volume Aseton
d) Laju aliran : 1ml/menit
e) Volume Injeksi : 5-10 μ l
f) Suhu kolom : 25⁰C

Penentuan Hasil

Kandungan Deltametrin = $\frac{SsIc}{IsSc} Wc \times P$

Is x Sc x Ws

Keterangan :

- Ss : Area puncak deltametrin dalam larutan sampel
Sc : Area puncak deltametrin dalam larutan kalibrasi
Is : Area puncak standar internal larutan sampel
Ic : Area puncak standar internal larutan kalibrasi
Ws : mg berat kelambu
Wc : mg deltametrin dalam larutan kalibrasi
P : deltametrin standar referensi

Pengujian Konsentrasi Insektisida Permethrin Dalam Kelambu

Prinsip Kerja : Contoh diekstrasi dengan aseton dan diklorometana dan ditetapkan dengan kromatografi gas menggunakan detektor FID (*Flame Ionization detector*)

Peralatan dan pereaksi yang digunakan adalah rotavapor, kromatografi gas yang dilengkapi dengan detektor FID, alat gelas, aseton GR, diklorometana GR, isooktan GR

Tahapan :

Ekstrasi : Kelambu ditimbang dengan timbangan analitik dan dimasukkan ke dalam erlemeyer asah (bertutup), ditambahkan campuran aseton : diklorometana 100 ml (50:50 v/v) dengan menggunakan pipet volume. Dibiarkan selama satu

malam untuk proses ekstraksi statis. Kemudian hasil ekstraksi disaring dan disuntikkan ekstrak ke dalam kromatograf gas.

Penetapan

Hasil ekstraksi diambil 1 µl ekstrak kemudian diinjeksikan ke dalam kromatograf gas dengan kondisi :

1. Kolom kapiler : Hp-5, panjang 30 m x 320 µm x 0,25 µm
2. Program suhu : 100⁰C-250⁰C, laju peningkatan 15⁰C/menit
3. Suhu Injektor : 250⁰C
4. Suhu detektor : 250⁰C
5. Gas Nitrogen UHP : 2 ml/menit
6. Detektor : FID (*Flame Ionization Detector*)

9) Uji Susceptibility (Resistensi Vektor) Nyamuk Metode Impregnated Paper

- a) Metode ini menggunakan kertas saring persegi panjang dengan ukuran 12 x 15 cm (Whatman No.1 atau sejenisnya) kemudian di impregnated/dilapisi dengan 2 ml pelarut, aseton yang dicampur dengan pembawa yang tidak menguap seperti minyak silicon (BDH Dow Corning 556 atau Risella (Shell) atau minyak situn. Selama melakukan test insektisida perlu dikonsultasikan mengenai pelarut dan zat pembawa yang akan digunakan.
- b) 25 batch *non blood fed* nyamuk betina dengan umur 2-5 hari ditempatkan pada tube dengan titik berwarna hijau dan dibiarkan pada suhu 25 C dengan kelembaban 80% untuk penyesuaian.
- c) Nyamuk dipindahkan secara perlahan-lahan pada tube yang terexposure (tube dengan titik merah), alat ini dibiarkan pada posisi vertikal selama 1 jam terlindung dari cahaya.
- d) Pada akhir waktu exposure, nyamuk akan berpindah pada tube titik hijau kemudian tube ini secara vertikal disimpan pada tempat gelap selama 24 jam dengan memberikan larutan sukrosa dan suhu ruangan 25 C dengan kelembaban 80%. Nyamuk yang mati dihitung setelah 24 jam²¹.

$$\text{Control Mortaliti (C)} = \frac{\text{Jumlah Nyamuk Yang Mati}}{\text{Total Jumlah Nyamuk Kontrol tube}}$$

$$\text{Exposure Mortaliti}(E) = \frac{\text{Jumlah Nyamuk yang Mati}}{\text{Total jumlah Nyamuk pada tube yang mengandung insectisida}}$$

$$\text{Abbot's Formula Corrected exposure Mortaliti } (\%) = \left(\frac{E-C}{100-C} \right) \times 100$$

10) Deteksi Mutasi Terkait Resistensi *Anopheles flavirostris* terhadap piretroid

Deteksi mutasi dilakukan pada seluruh *Anopheles flavirostris* yang masih hidup setelah terpapar piretroid. Analisis dilakukan pada tingkat DNA dengan tahapan sebagai berikut:

- a) Ekstraksi DNA dari nyamuk.
- b) Letakan 180 ul dapar PBS pada setiap tabung yang akan digunakan untuk menghancurkan nyamuk.
- c) Letakan nyamuk utuh atau abdomen dari serangga yang lebih besar pada dapar.
- d) Lakukan maserasi secara keseluruhan menggunakan pestle. Segera tambahkan 20 ul Proteinase K, dan 200 ul dapar pelisis. Vortex selama 10 detik. Inkubasi selama 10 menit pada suhu 70°C.
- e) Tambahkan 200 ul Ethanol absolute. Vortex selama 10 detik.
- f) Ambil larutan pada dari langkah 4, pindahkan ke kolom minispin yang sudah diletakan di dalam tabung penampung. Sentrifuga kolom selama 1 menit pada 8.000 rpm.
- g) Pindahkan kolom ke tabung penampung baru, lakukan langkah 5 pada sisa larutan. Buang lisat.
- h) Tambahkan dapar pencuci 1, sentrifuga selama 1 menit pada 8.000 rpm. Buang lisat.

- i) Tambahkan 500 ul dapar pencuci 2, sentrifuga selama 3 menit pada 13.000 rpm.
- j) Pindahkan minispin kolom ke tabung mikrosentrifuga 1,5 ml, tambahkan 100 ul dapar pengelusi kedalam minispin kolom. Inkubasi pada suhu ruang selama 1 menit, lalu sentrifuga selama 1 menit pada 8.000 rpm.
- k) DNA siap untuk dianalisis lanjut

11) Deteksi gen kdr menggunakan probe.

Komponen PCR

Bahan	ul/reaksi (25ul)
DNA genomic	1
2x PCR Master Mix	12,5
Enzyme	0,25
Primer forward	0,5
Primer reverse	0,5
Probe	0,25
Air bebas nuclease	10

Deteksi mutasi dilakukan secara kuantitatif menggunakan teknik *PCR Real-time* menggunakan primer dan probe yang sudah dirancang pada penelitian yang dilakukan oleh Bass pada 2007.¹⁹ Program PCR yang akan digunakan adalah:

Step	Siklus	Suhu	Waktu
1	1x	95°C	10 menit
2	40x	95°C	10 detik
3		60°C	45 detik

Primer yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah Primer *kdr-Forward* (5'-CATTTCCTTGGCCACTGTAGTGAT-3'), dan primer *kdr Reverse* (5'-CGATCTTGGTCCATGTAAATTTGCA-3'). Probe yang akan digunakan untuk mendetik galur murni WT (5'-CTTACGACTAAATTC- 3') dilabeli dengan VIC pada

ujung 5'. Probes *kdrW* (5'-ACGACAAAATTTTC-3') dan *kdrE* (5'-ACGACTGAATTTTC-3') dilabelidengan 6-FAM untuk mendeteksi mutan *kdr-w* dan *kdr-e*. Data qPCR ini dikonfirmasi menggunakan PCR konvensional dan sekuensing DNA. Primer yang digunakan untuk PCR ini adalah An. F 5' GACCATGATCTGCCAAGATGGAAT3 dan An. R 5' GAGGATGAACCGAAATTGGAC 3'. Produk PCR yang diperoleh selanjutnya dielektroforesis pada agarose 1%. Hasil elektroforesis menunjukkan adanya pita DNA berukuran sekitar 300 pasang basa gambar 2. Produk PCR yang diperoleh dikarakterisasi lebih lanjut dengan sekuensing DNA. Analisis hasil sekuensing menunjukkan produk PCR yang diperoleh terkonfirmasi sebagai *kdr Anopheles* dan merupakan *wild type* V1010 dan L1040.

K. Pengolahan Dan Analisis Data

Data yang diperoleh ditabulasi dan dianalisis secara deskriptif

BAB IV

HASIL PENELITIAN

A. Gambaran Umum Kabupaten Maluku Tenggara Barat

Kabupaten Maluku Tenggara Barat (MTB) terletak pada $6^{\circ} - 8^{\circ}30''$ Lintang Selatan dan $125^{\circ}45 - 133^{\circ}$ Bujur Timur, pada posisi Provinsi Maluku bagian selatan. Kabupaten ini berbatasan di sebelah timur dengan Laut Arafura, sebelah selatan dengan Laut Timor dan Negara Australia, sebelah barat dengan Kabupaten Maluku Barat Daya (Gugus Pulau Babar dan Sermata), dan sebelah utara dengan Laut Banda. Kabupaten MTB merupakan daerah kepulauan yang meliputi seluruh Kepulauan Tanimbar. Kepulauan ini terbentang kurang lebih 135 mil utara ke selatan, berjarak kurang lebih 300 mil ke tenggara dari ibukota Provinsi Maluku (Ambon) dan sekitar 300 mil dari Darwin dan pesisir barat laut Australia. Terdapat sebanyak 85 buah pulau pada kabupaten ini dimana 28 di antaranya tidak dihuni. Sumber lain mencantumkan terdapat sekitar 174 buah pulau, dengan panjang garis pantai 1623.2695 km. Pulau Yamdena merupakan pulau terbesar dengan panjang kira-kira 75 mil dan lebar 30 mil. Beberapa pulau berukuran lebih kecil, seperti Pulau Selaru, Pulau Larat, Pulau Fordata, Pulau Seira, Pulau Wuliaru, Pulau Selu, Pulau Molu, dan Pulau Maru, serta sejumlah pulau-pulau kecil lainnya. Berdasarkan Peraturan Presiden Nomor 78 Tahun 2005, tercatat empat buah pulau di Kabupaten MTB yang merupakan pulau terluar yang berbatasan dengan Negara Australia, yaitu Pulau Selaru, Batarkusu, Asutubun, dan Larat.

Luas Kabupaten MTB adalah 52,995.20 km², yang terdiri dari wilayah daratan seluas 10,102.92 km² (19.06%) dan wilayah laut seluas 42,892.28 km² (80.94%). Kabupaten MTB kini memiliki 10 kecamatan, yaitu Kecamatan Tanimbar Selatan, Wertamrian, Wermaktian, Selaru, Tanimbar Utara, Yaru, Wuarlabobar, Nirunmas, Kormomolin dan Molo Maru.

Kecamatan kesepuluh, yaitu Kecamatan Molo Maru baru terbentuk tahun 2011, dimekarkan dari Kecamatan Wuarlabobar.

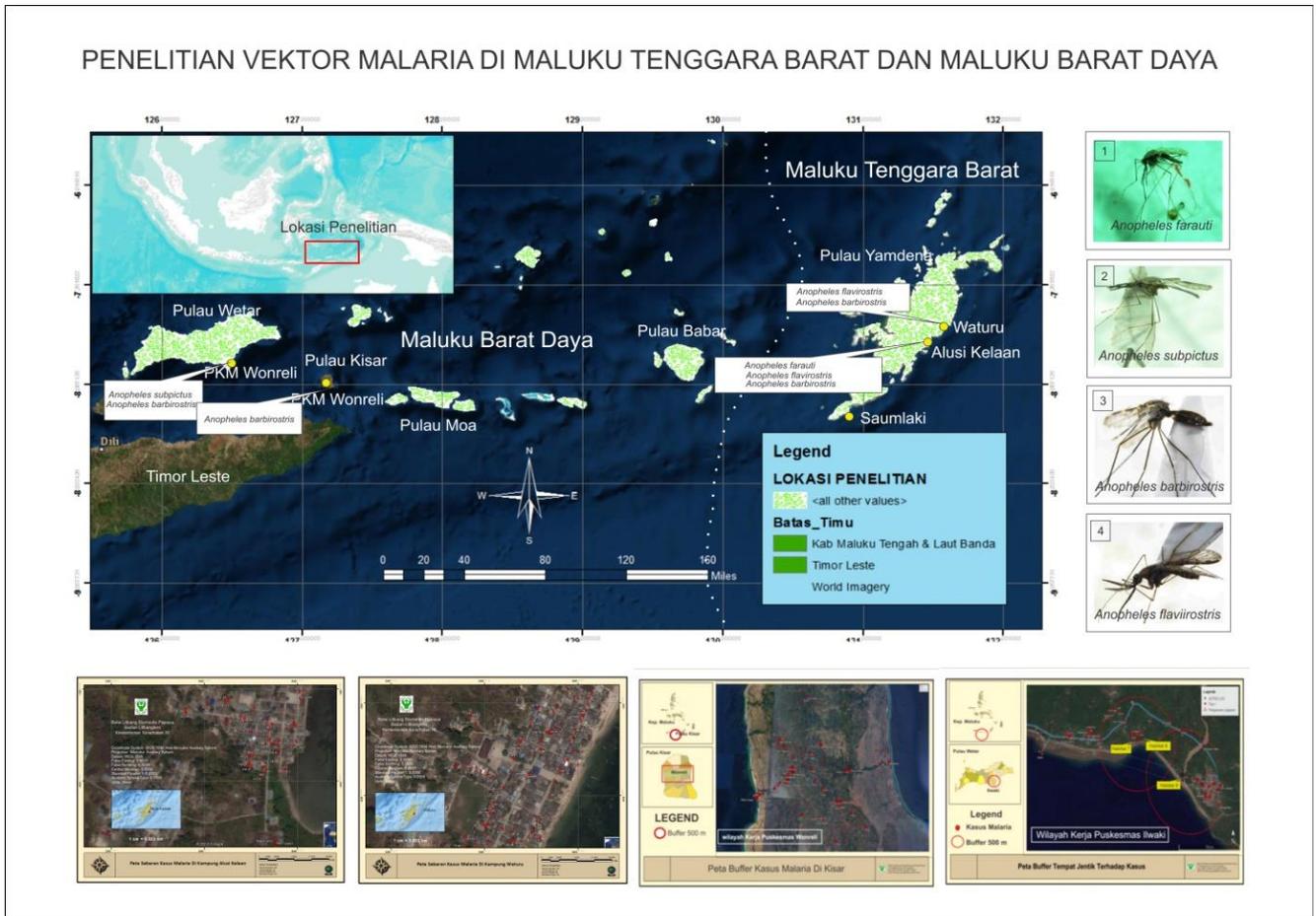
B. Gambaran umum Kabupaten Maluku Barat Daya

Kabupaten Maluku Barat Daya (MBD) terletak Timur. Letak Kecamatan Pulau – pulau Terselatan berada pada Pulau Kisar yang berada diwilayah Kabupaten Maluku Barat Daya. Adapun letaknya menurut Geografis, Kabupaten ini berbatasan di sebelah Utara dengan Kecamatan Kisar Utara, Sebelah Selatan dengan Laut Timor, Sebelah Barat dengan kecamatan wetar timur dan Sebelah Timur dengan Kecamatan Letti. Luas Daratan kecamatan Pulau-pulau terselatan yaitu 50,73 km². Desa yang memiliki wilayah daratan terluas adalah Desa Wonreli sebesar 29,79 km², sedangkan desa dengan wilayah terkecil adalah oirata Barat dan Oirata Timur yaitu masing-masing hanya 1,87 km², Letak Wilayah Kecamatan PP.Terselatan berada di daerah Pesisir dengan topografi hamparan, Lembah, dan Lereng.

C. Topografi dan Musim

Bentuk lahan makro di wilayah ini adalah dataran, berbukit, dan bergunung. Kepulauan initerdiri dari pulau-pulau *lime-stone* dan karang yang umumnya tidak lebih dari 150-250 meter di atas permukaan laut, Pulau-pulau kecil terhampar di bagian barat dan utara, dengan ketinggian kurang dari 100 meter. Pulau-pulau ini terpisah oleh selat dengan kedalaman tidak lebih dari 20 meter. Yamdena Utara umumnya datar dengan ketinggian kurang dari 50 meter, sedangkan daerah perbukitan di bagian selatan tingginya melebihi 200 meter. Seperti umumnya Kepulauan Maluku, maka Kepulauan Tanimbar mengalami musim timur dan musim barat yang diselingi oleh musim pancaroba. Musim timur berlangsung dari bulan April sampai September, dan merupakan musim kemarau. Musim barat berlangsung pada bulan Oktober sampai Maret, dan memiliki banyak hari hujan. Curah hujan cukup tinggi terjadi pada bulan Desember-Maret. Musim pancaroba terjadi pada bulan Maret/April dan

Oktober/November. Suhu rata-rata di MTB adalah 27,6 °C, dengan suhu minimum 22,4 °C dan maximum 33,1°C .



Gambar.1 Peta Lokasi Penelitian di Kab. Maluku Tenggara Barat dan Kab.Maluku Barat Daya

Tabel 1 Kegiatan MBS di Desa Ilwaki dan Desa Wonreli, Kabupaten Maluku Barat Daya

Desa	Responden	Plasmodium vivax	Plasmodium falciparum
Ilwaki	208	1	0
Wonreli	218	0	0

Melalui kegiatan Mass Blood Survei pada bulan Juni 2016 di Desa Ilwaki Kabupaten Maluku Barat Daya, diperoleh responden 208 sample slide, dan diperoleh hasil 1 positif *Plasmodium vivax*. Di Desa Wonreli juga dilakukan MBS, dari 218 sample slide. Dan hasilnya semua negatif

Tabel 2. Kondisi fisik dan lingkungan beberapa habitat jentik *Anopheles* spp di Desa Kelaan, dan Desa Waturu, Kabupaten Maluku Tenggara Barat

Kondisi fisik	Tipe habitat <i>Anopheles</i> spp		
	Saluran air	Kolam kobakan	Genangan air pada sampan/perahu
Suhu air °C	27.6	28.0	28.1
pH	6	6	6
Kelembaban udara (%)	80	75	78
Suhu udara °F	85	75	78
Salinitas	1	3	2
Kedalaman (cm)	50	30	20 cm
Dasar perairan	berlumpur	berlumpur	-
Tanaman air	<i>Ipomoea aquatica</i> , Lumut air, Algae hijau, <i>Eichornia crassipes</i>	<i>Ipomoea aquatica</i> , Lumut air, Algae hijau, <i>Eichornia crassipes</i>	-
Tanaman sekitar	<i>Imperata cylindrica</i> , <i>Cyperus rotundus</i> , pohon pisang, pohon kelapa	<i>Cyperus rotundus</i> Kelapa, pohon mangga, pohon jati	-
Tanaman penuduh	-	-	-
Kerapatan tanaman	rapat	rapat	-
Ekosistem sekitar	Semak, Hutan kelapa, pemungkiman	Hutan kelapa, semak,	pemungkiman
Jenis predator air	Laba-laba air, ikan kepala timah	Laba-laba air, ikan kepala timah	Laba-laba air
Jarak ke pemungkiman	50 meter	500 meter	100 meter
Jenis anopheles	<i>An. barbirotris</i> <i>An. flavirostris</i>	<i>An. farauti</i> <i>An. flavirostris</i> <i>An. barbirotris group</i>	<i>An. farauti</i>
Jumlah Jentik	5	20	5
Kepadatan Jentik 50 cidukan (%)	10	40	10

Tipe Habitat yang banyak ditemukan di Kabupaten Maluku Tenggara Barat yaitu Saluran air, Kolam Kobakan dan genangan air pada sampan/perahu.

Tabel 3 Jenis jentik yang ditemukan di beberapa tipe perairan di Desa Kelaan dan Desa Waturu, Kabupaten Maluku Tenggara Barat

Tipe Habitat	Jentik <i>Anopheles</i> spp yang ditemukan		
	<i>An. farauti</i>	<i>An. flavirostris</i>	<i>An. barbirotris group</i>
Saluran Air	0	3	2
Kolam kobakan	5	9	6
Genangan air pada sampan perahu	5	0	0
Total	10	12	8

Hasil rearing nyamuk yang dikoleksi dari lapangan dapat dilihat pada tabel.7 Jenis *Anopheles* spp yang ditemukan di lokasi penelitian yaitu: *An. flavirostris*, *An. barbirostris* group, dan *An. farauti*.

Tabel 4 Kondisi fisik dan lingkungan habitat jentik *Anopheles* spp di Desa Ilwaki, Desa Wonreli, Kabupaten Maluku Barat Daya

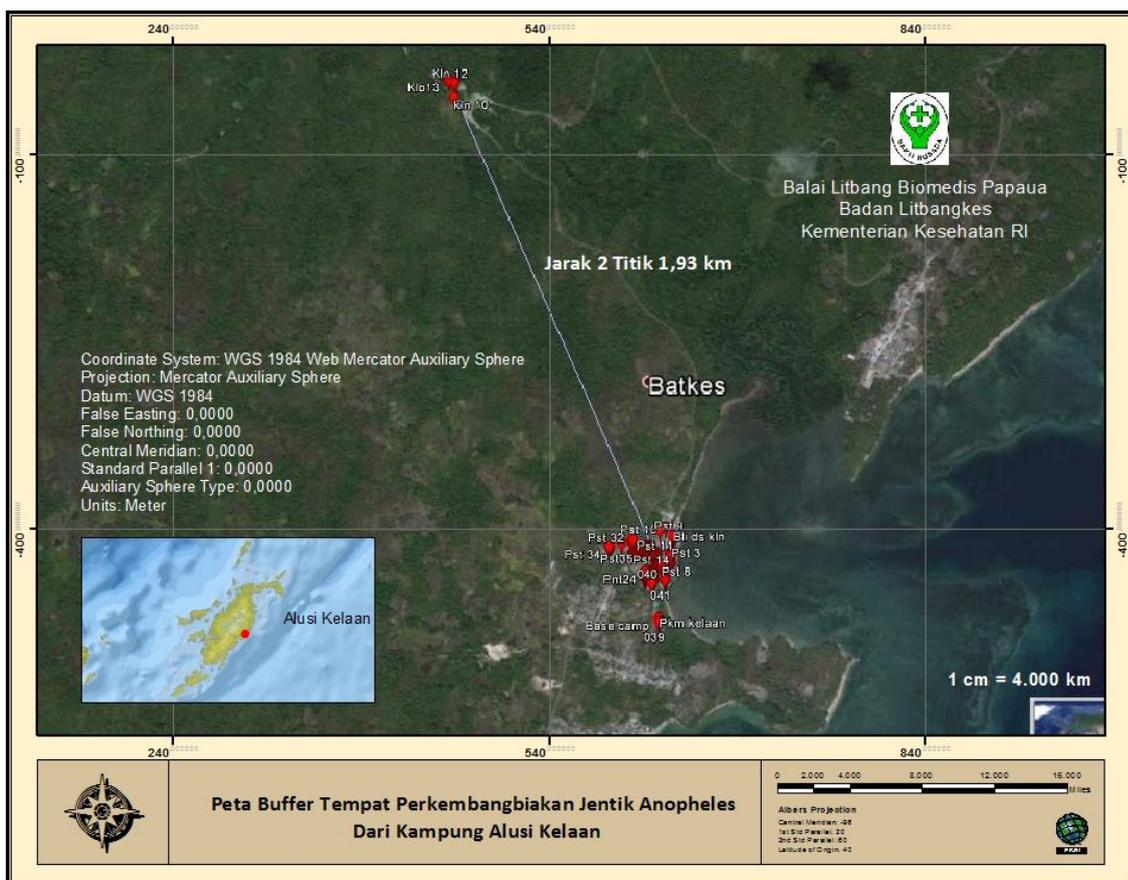
Kondisi fisik	Tipe habitat <i>Anopheles</i> spp		
	Saluran air	Kolam kobakan	Genangan air pada sampan/perahu
Suhu air °C	27.6	28.0	28.1
pH	6	6	6
Kelembaban udara (%)	80	75	78
Suhu udara °F	85	78	78
Salinitas	1	3	2
Kedalaman (cm)	30	30	20 cm
Dasar perairan	berlumpur	berlumpur	-
Tanaman air	<i>Ipomoea aquatica</i> , Lumut air, Algae hijau , <i>Eichornia crassipes</i>	<i>Ipomoea aquatica</i> , Lumut air, Algae hijau, <i>Eichornia crassipes</i>	-
Tanaman sekitar	<i>Pohon asam Jawa</i> , <i>Pohon Bambu</i> , <i>pohon pisang</i> , <i>pohon kelapa</i>	<i>Cyperus rotundus</i>	-
Tanaman penuduh	-	-	-
Kerapatan tanaman	rapat	rapat	-
Ekosistem sekitar	Semak, Hutan kelapa, pemungkiman	Hutan kelapa, semak,	pemungkiman
Jenis predator air	Laba-laba air, ikan kepala timah	Laba-laba air, ikan kepala timah	Laba-laba air
Jarak ke pemungkinan	50 meter	500 meter	100 meter
Jenis anopheles	<i>An. Barbirotris</i> <i>An. Flavirostris</i> <i>An.Subpictus</i>	<i>An. flavirotris</i> <i>An. Barbirotris</i> group	<i>Subpictus</i>
Jumlah Jentik	10	15	10
Kepadatan Jentik 20 cidukan (%)	5	10	5

Hasil rearing nyamuk yang dikoleksi dari lapangan dapat dilihat pada tabel Jenis *Anopheles* spp yang ditemukan di lokasi penelitian yaitu: *An. flavirostris*, *An. barbirostris* group, dan *An. farauti* .

Tabel 5. Jenis jentik yang ditemukan di beberapa tipe perairan di Desa Wonreli dan Desa Ilwaki, Kabupaten Maluku Barat Daya

Tipe Habitat	Jentik <i>Anopheles</i> spp yang ditemukan		
	<i>An. subpictus</i>	<i>An. flavirostris</i>	<i>An. barbirostris</i> group
Saluran Air	3	5	2
Kolam kobakan	5	7	3
Genangan air pada sampan perahu	10	0	0
Total	18	12	5

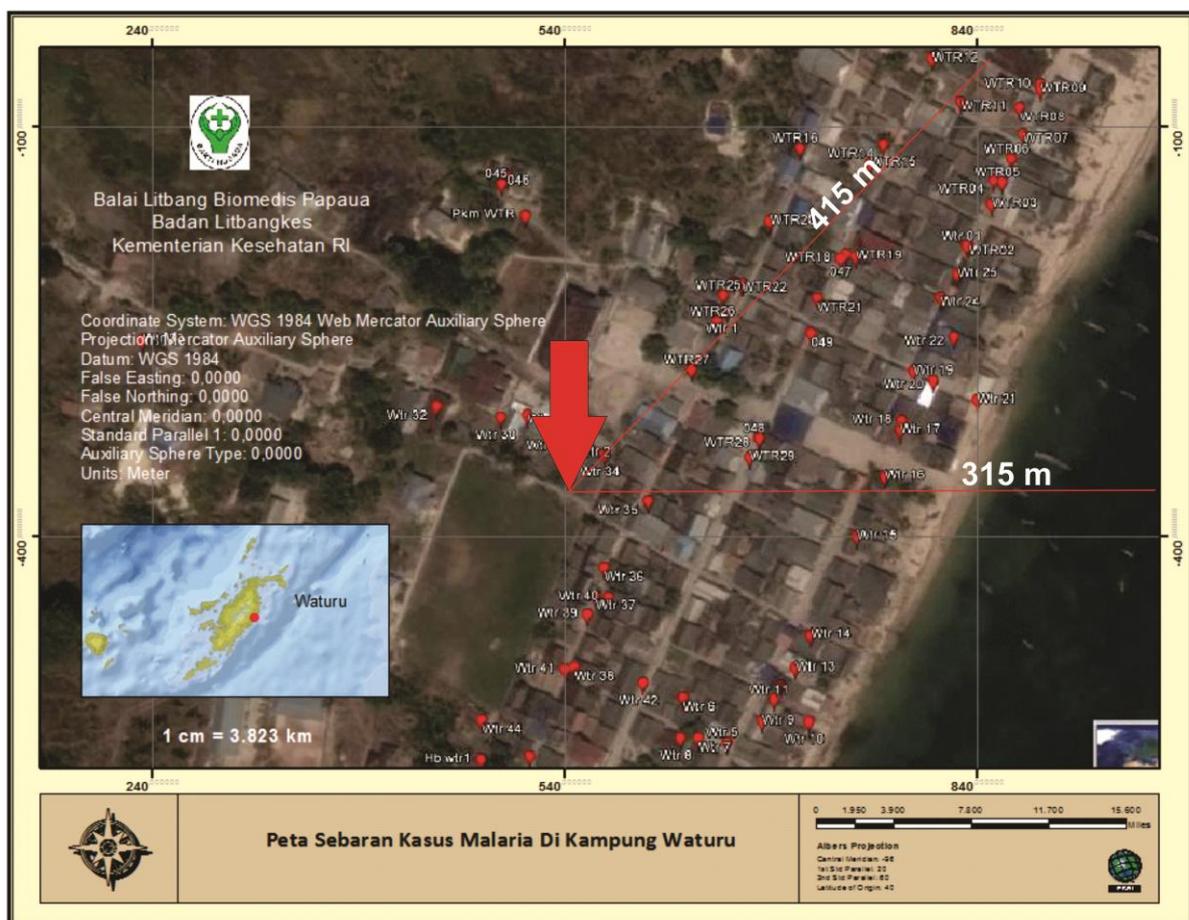
Hasil rearing nyamuk yang dikoleksi dari lapangan dapat dilihat pada di atas Jenis *Anopheles* spp yang ditemukan di lokasi penelitian yaitu: *An. flavirostris*, *An. barbirostris* group, *An. subpictus*.



Gambar 2. Peta buffer tempat perkembang-biakan jentik nyamuk *Anopheles* sp (lokasi tempat pemberhentian ojek di jembatan Weloka dengan Desa Alusi Kelaan (Sumber Peta Citra Satelit yang diambil dari Google Earth).

Peta buffer lokasi perkembangbiakan jentik *Anopheles* spp di Desa Alusi Kelaan. Buffering dilakukan berdasarkan jarak terbang nyamuk *Anopheles* spp yaitu 500 - 1.500 km. Hasil pemetaan menunjukkan bahwa lokasi ditemukannya kasus malaria yang di Desa Alusi Kelaan, masih pada radius jarak terbang nyamuk *Anopheles* sp yaitu 500 m. Hasil pemetaan juga juga menunjukkan bahwa desa tetangga yaitu Desa Alusi Krawai dan Alusi Kilmasa juga masuk dalam daerah yang rawan penularan malaria karena masih masuk dalam radius jarak terbang nyamuk *Anopheles* spp.

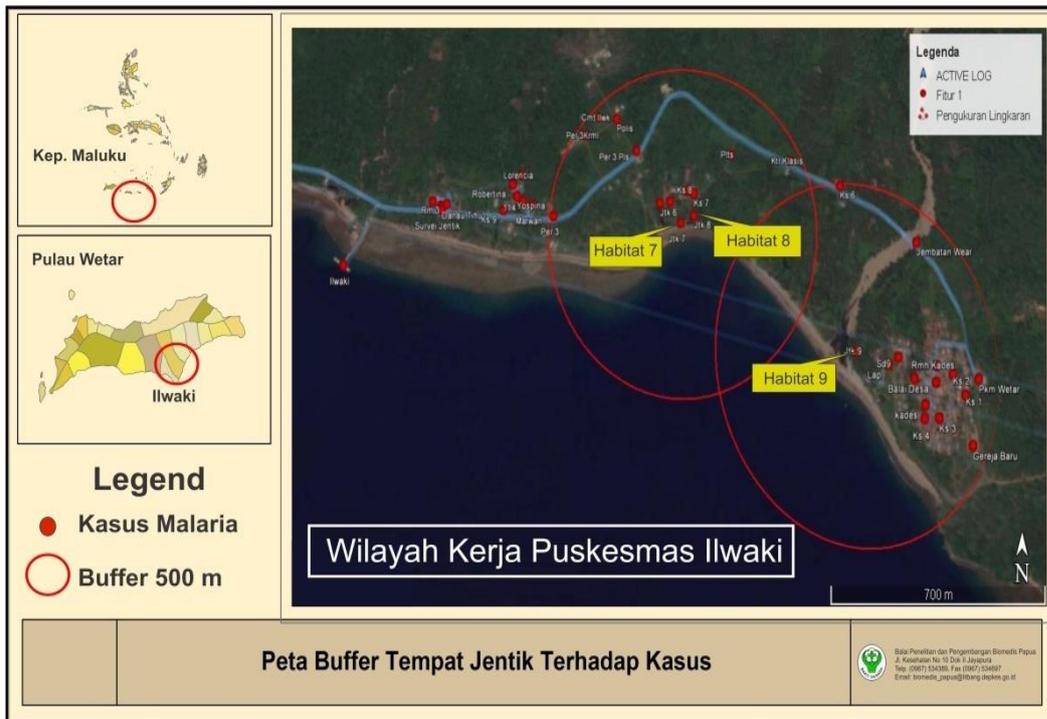
Peta Habitat dan kasus malaria di Waturu (puskesmas Waturu)



Gambar 3. Peta buffer tempat perkembang-biakan jentik nyamuk *Anopheles* spp di Desa Waturu (Sumber Peta Citra Satelit yang diambil dari Google Earth).

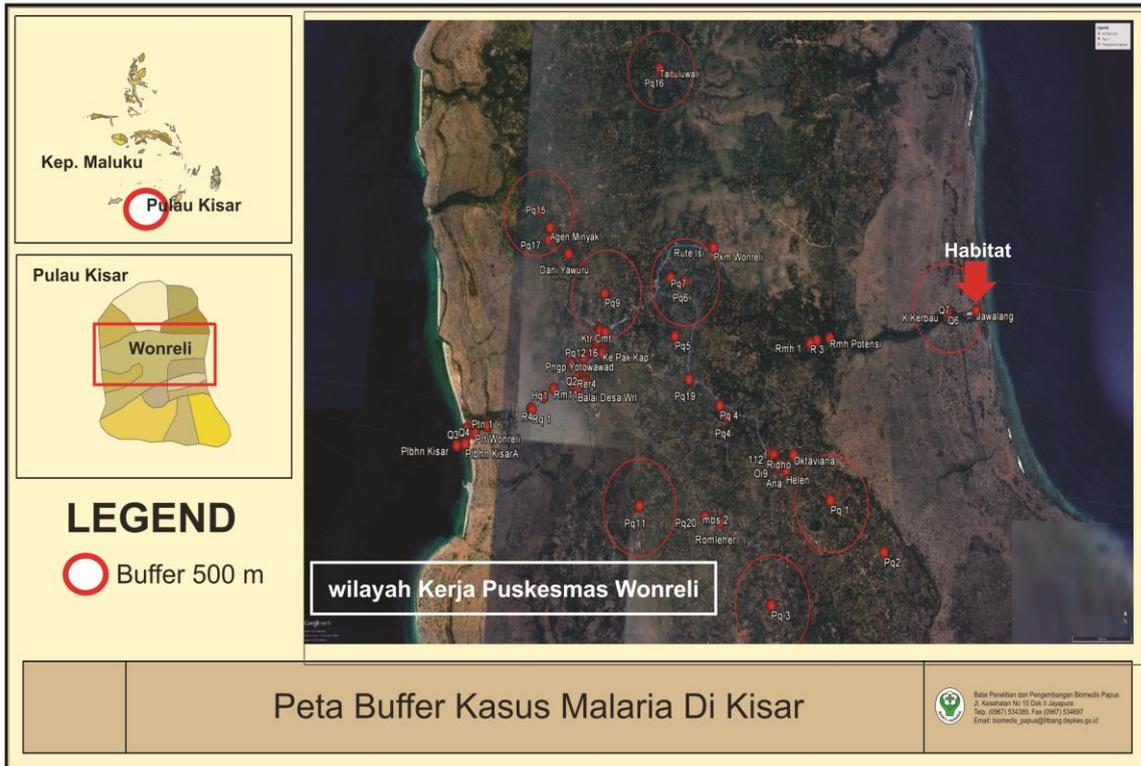
Peta buffer lokasi perkembangbiakan jentik *Anopheles* spp di Desa Waturu Kecamatan Nirumas, dimana buffer dilakukan berdasarkan jarak terbang nyamuk *Anopheles* spp yaitu 500 - 1.500 km. Pada peta diketahui bahwa kasus malaria yang terjadi di Desa Waturu masih dalam radius jarak terbang nyamuk *Anopheles* spp yaitu 500 m. Desa Waturu juga

masuk dalam daerah yang rawan penularan malaria karena masih masuk dalam radius jarak terbang nyamuk *Anopheles* spp.



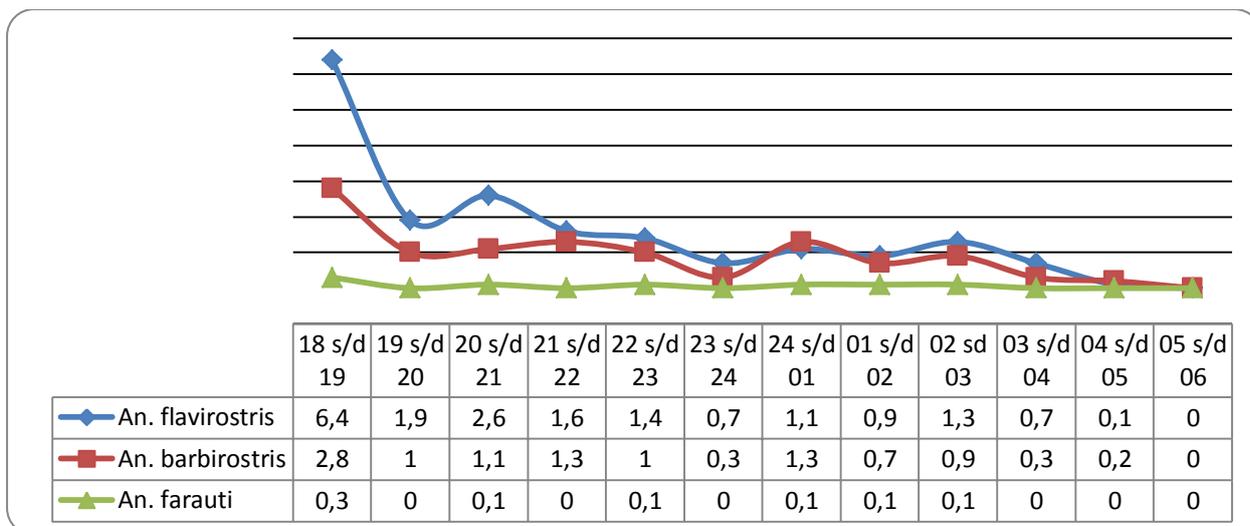
Gambar 4. Peta Buffer habitat jentik terhadap kasus Malaria di Desa Ilwaki(Sumber Peta Citra Satelit yang diambil dari Google Earth).

Peta buffer habitat jentik terhadap lokasi kasus malaria Desa Ilwaki, dimana buffer dilakukan berdasarkan jarak terbang nyamuk *Anopheles* spp yaitu 500 - 1.500 km. Pada peta diketahui bahwa kasus malaria yang terjadi di Desa Ilwaki masih dalam radius jarak terbang nyamuk *Anopheles* spp yaitu 500 m. Desa ilwaki juga masuk dalam daerah yang rawan penularan malaria karena masih masuk dalam radius jarak terbang nyamuk *Anopheles* sp.



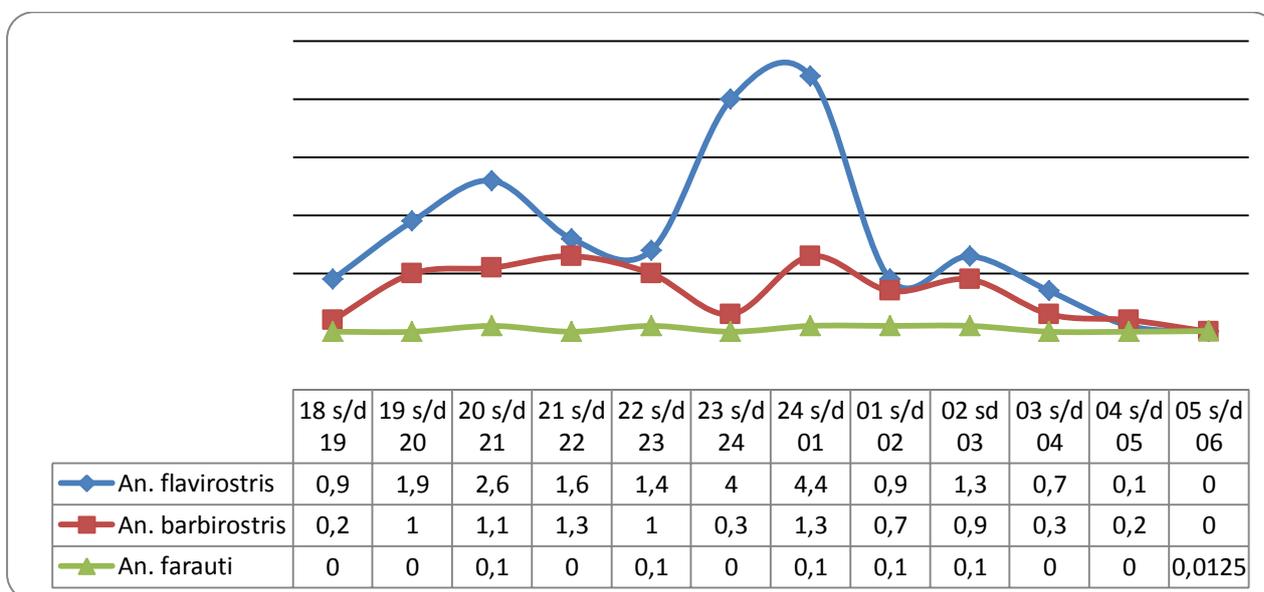
Gambar 5. Peta Buffer habitat jentik terhadap kasus Malaria di wilayah kerja Puskesmas Wonoreli (Sumber Peta Citra Satelit yang diambil dari Google Earth)

Peta buffer habitat jentik terhadap lokasi kasus malaria di wilayah kerja Puskesmas Wonoreli, dimana buffer dilakukan berdasarkan jarak terbang nyamuk *Anopheles* spp yaitu 500 - 1.500 km. Pada peta diketahui bahwa kasus malaria yang terjadi di wilayah kerja Puskesmas Wonoreli kebanyakan bersifat soliter artinya kasus berdiri sendiri sendiri dan jauh dari radius jangkauan jarak terbang nyamuk *Anopheles* spp yaitu 500 - 1000 m.



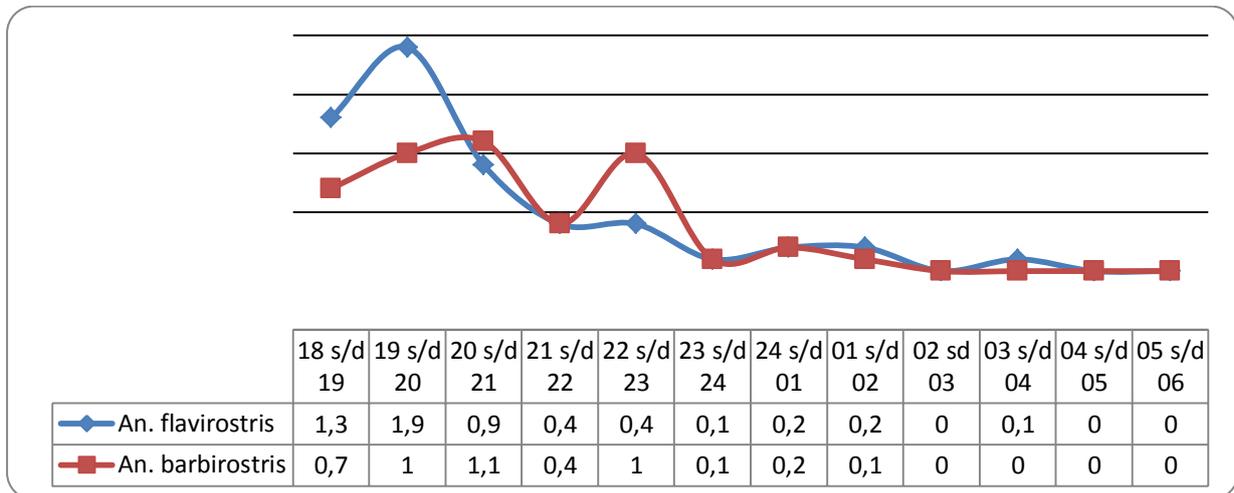
Gambar 6. Menunjukkan tingkat kepadatan *An. flavirostris*, *An. barbirostris* di Kampung Alusi berdasarkan jam penangkapan pada bulan Mei – Juni 2016

dimana mencapai puncak kepadatan pada pukul 18.00 – 19.00 dan kepadatan terendah pada pukul 05.00-06.00.



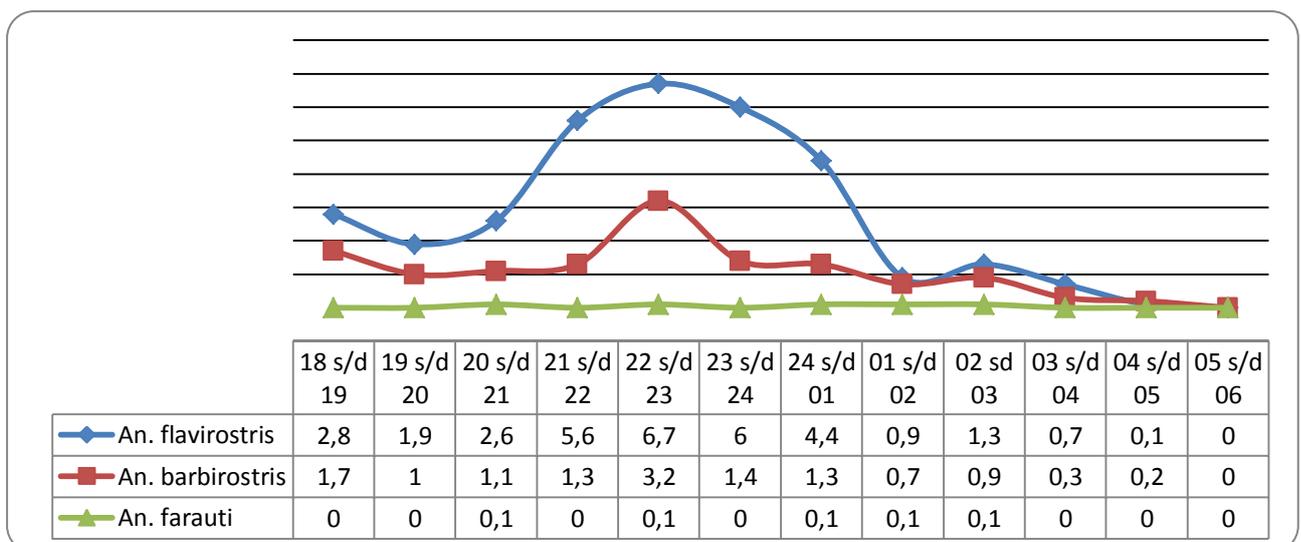
Gambar 7. Menunjukkan tingkat kepadatan *An. flavirostris*, *An. barbirostris* di Kampung Alusi pada Bulan September – Oktober 2016

tiap malam mencapai puncak kepadatan pada pukul 20.00 – 19.00 dan meningkat lagi pada pukul 23.00 – 24.00 terendah pada pukul 05.00 – 06.00, *An. barbirostris* tiap malam dimanamencapai puncak kepadatan pada pukul 20.00 – 19.00 dan kepadatan terendah pada pukul 05.00-06.00



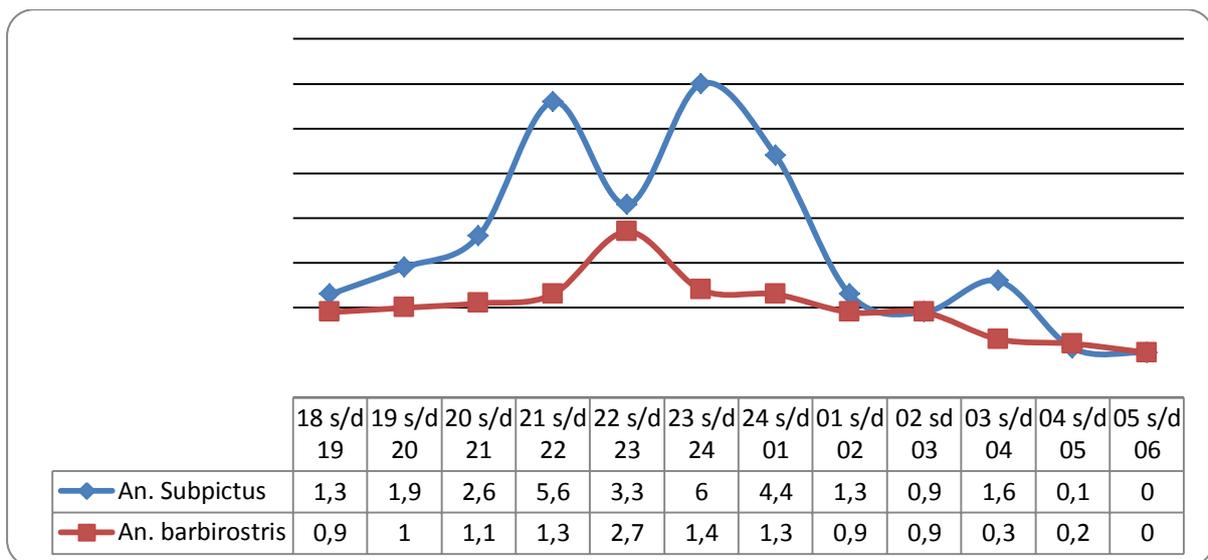
Gambar 8. Tingkat kepadatan *An. flavirostris*, dan *An.barbirostris* dikampung waturu pada bulan Mei - Juni 2016

mencapai puncak kepadatan pada pukul 18.00.00 – 19.00 dan terendah pada pukul 02.00 – 06.00, *An.Barbirostris* tiap malam dimana mencapai puncak kepadatan pada pukul 18.00 – 19.00 dan meningkat lagi pukul 22.00 – 23.00 kepadatan terendah pada pukul 02.00-06.00



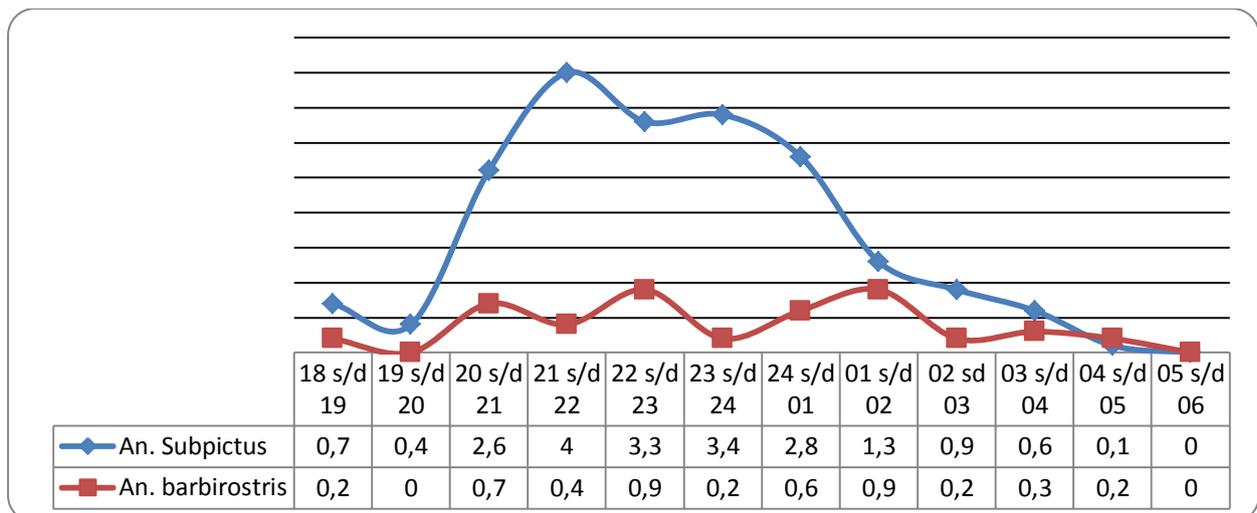
Gambar 9. menunjukkan tingkat kepadatan *An. flavirostris*, *An. barbirostris*, *An. farauti* di kampung waturu pada bulan September – Oktober 2016

tiap malam mencapai puncak kepadatan pada pukul 22.00.00 – 23.00 dan terendah pada pukul 05.00 – 06.00, *An. Barbirostris* tiap malam dimana mencapai puncak kepadatan pada pukul 22.00 – 23.00 dan kepadatan terendah pada pukul 05.00-06.00



Gambar 10. Tingkat kepadatan *An. subpictuss*, *An barbirostris* di Kampung Ilwaki pada bulan Mei - Juni 2016

Mencapai puncak kepadatan pada pukul 21.00.00 – 22.00 dan meningkat lagi pada pukul 23.00 – 24.00 terendah pada pukul 05.00 – 06.00, *An. Barbirostris* tiap malam dimana mencapai puncak kepadatan pada pukul 22.00 – 23.00 dan kepadatan terendah pada pukul 05.00-06.00



Gambar 11. Tingkat kepadatan *An. subpictus*, *An barbirostris* di Kampung Ilwaki pada bulan September - Oktober 2016

tiap malam mencapai puncak kepadatan pada pukul 21.00.00 – 22.00 dan terendah pada pukul 05.00 – 06.00, *An. barbirostris* tiap malam dimana mencapai puncak kepadatan pada pukul 22.00 – 23.00 dan kepadatan terendah pada pukul 05.00-06.00.

Tabel 6. *Parity rate* (PR) dan peluang hidup vektor dalam satu hari (P) dan perkiraan rata-rata umur nyamuk *Anopheles* spp

Spesies nyamuk	Jumlah nyamuk dibedah	Parous (P)	Parous rate (PR)	$P = \frac{gc}{\sqrt{PR}}$	Umur Nyamuk = $\frac{1}{-\ln P}$
<i>An. flavirostris</i>	50	26	0,52	0,72	3,38
<i>An. barbirostris</i> group	15	5	0,33	0,57	1,75
<i>An. subpictus</i>	20	15	0,35	0,75	3,64

Tabel.6 menunjukkan peluang hidup *An. flavirostris* di alam adalah 0,72 per hari dengan umur rata-rata di alam 3.38 hari. Peluang hidup *An. barbirostris* group adalah 0.57 dengan umur rata-rata nyamuk di alam 1,75. Peluang hidup nyamuk dan *An. subpictus* adalah 0.75 dengan umur rata-rata nyamuk di alam 3,64. Siklus gonotropik (gc) dari nyamuk *Anopheles* sp yang digunakan untuk menghitung peluang hidup nyamuk adalah 3 (tiga) hari (data sekunder).

Tabel 7. Hasil Uji Bioassay Kelambu Puskesmas Alusi, Waturu dan Ilwaki

No	Lokasi	Deltametrin			Permetrin		
		Jumlah Pencucian	Jumlayang diujih kelambu	Hasil (%)	Jumlah Pencucian	Jumlayang diujih kelambu	Hasil (%)
1	Alusi	1	1	91	1	1	80
		2	2	80			
		3	1	37			
2	Waturu	2	1	44	2	1	84
		4	2	84,4			
		5	1	77,2			
3	Ilwaki	1	1	87	1	2	80
		2	1	80			
		3	1	57			

Tabel di atas menunjukkan bahwa kelambu di Kampung Alusi menunjukkan kadar di bawah ambang batas WHO pada pencucian yang ke 3 kali, sedangkan di Kampung Waturu dan Ilwaki, pada kelambu yang dicuci lebih dari 3 kali masih memiliki kadar insektisida di atas batas. Kondisi menarik tampak pada sampel kelambu di Kampung Waturu, dimana pada pencucian 2 kali sudah mengalami penurunan kadar insektisida menjadi 44%.

Tabel 8. Hasil uji kelambu GC, *Bioassay*, jumlah pencucian dan lama pemakaian (Puskesmas Alusi, Waturu, Kisar dan Ilwaki)

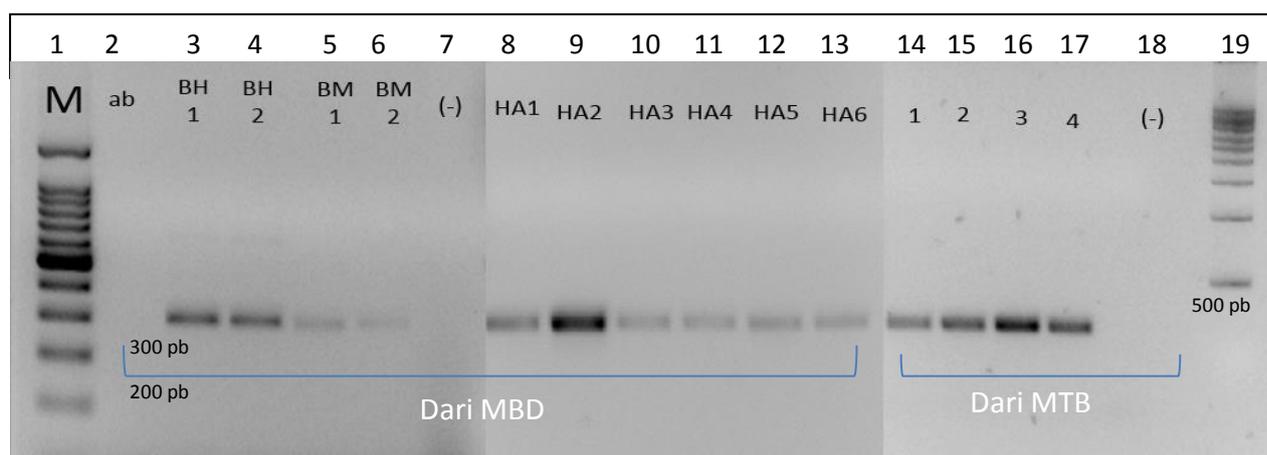
No	Lokasi	Kelambu LLINs	Rerata lama pakai (tahun)	Rerata jumlah Cuci (kali)	Rerata Hasil Uji Bioassay Kematian (%)	Rerata Konsentrasi Insektisida: (mg/m ²)		
						Awal	Uji GC	Penurunan (%)
1	PKM Alusi	Permanet (Deltametrin)	2	2.4	80	55.0	18.14	67.03
		Olyset (Permetrin)	-	-	-	-	-	-
2	PKM Waturu	Permanet (Deltametrin)	2	3.5	82	55.0	39.30	29
		Olyset (Permetrin)	2,5	1,5	80	700.0	637,78	9
3	PKM Kisar	Permanet (Deltametrin)	2	>3	-	55.0	48,1	13
		Olyset (Permetrin)	2	1,5	-	700	652,27	7
4	PKM Ilwaki	Permanet (Deltametrin)	2	>3	80	55.0	0,922	98
		Olyset (Permetrin)	2	2,3	74	700	634,83	9

Tabel diatas menunjukkan bahwa kelambu pasca pemakaian 2 tahun oleh masyarakat Kab.Maluku Tenggara Barat dan Kab.Maluku Barat Daya masih memenuhi standar keefektifan minimal kelambu oleh WHO yaitu persentase kematian nyamuk > 50% baik kelambu yang berbahan aktif deltametrin maupun permetrin.

Tabel 9. Uji suseptibiliti (Kampung Alusi, Waturu, Kisar dan Ilwaki)

No	Spesies	Insektisida	Hasil
1.	<i>An. barbirostris</i> group	Deltametrin 0,05%	98,9%
2.	<i>An. flavirostris</i>	Deltametrin 0,05%	99,5%
3.	<i>An. barbirostris</i> group	Permetrin 70%	99,7%
4.	<i>An. flavirostris</i>	Permetrin 70%	100%
5.	<i>An. subpictus</i>	Deltametrin 0,05%	98,5%
6.	<i>An. subpictus</i>	Permetrin 70%	99%

Tabel .9 menunjukkan bahwa hasil uji kerentanan spesies *Anopheles* tersebut dapat diartikan bahwa kandungan deltametrin 0,05% dan permetrin 70% sangat efektif

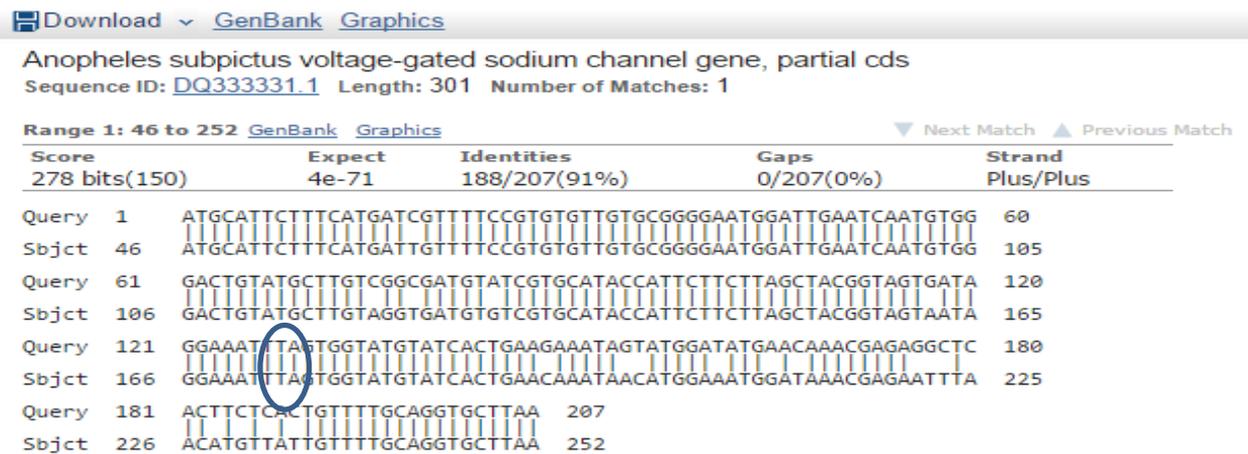


Gambar 12. Hasil elektroforesis kdr *Anopheles* pada agarose 1%.

Hasil elektroforesis gel menunjukkan adanya pita DNA yang berukuran sekitar 300 pb dan sesuai dengan ukuran DNA target yang diharapkan. Sebanyak 15 pool nyamuk diekstraksi dari DNA genomnya. Sebanyak 11 pool berasal dari MBD, dan 4 pool berasal dari MTB. Sebanyak 10 pool dari 11 pool nyamuk yang dari MBD fragmen kdr parsialnya diamplifikasi menunjukkan pita DNA yang tegas, sementara fragmen gen *vgsc* dari semua spesimen yang berasal dari MTB berhasil diamplifikasi. Pada lajur 1 adalah marker DNA 100 pb, dan pada lajur 19 adalah marker 1 kpb. Lajur 2 – 4 adalah hasil amplifikasi yang berasal dari *An. barbirostris* yang hidup saat diuji kerentanan, dan lajur 5 – 6 adalah hasil amplifikasi yang berasal dari *An. barbirostris* yang mati saat diuji kerentanan. Lajur 8 – 13 adalah hasil

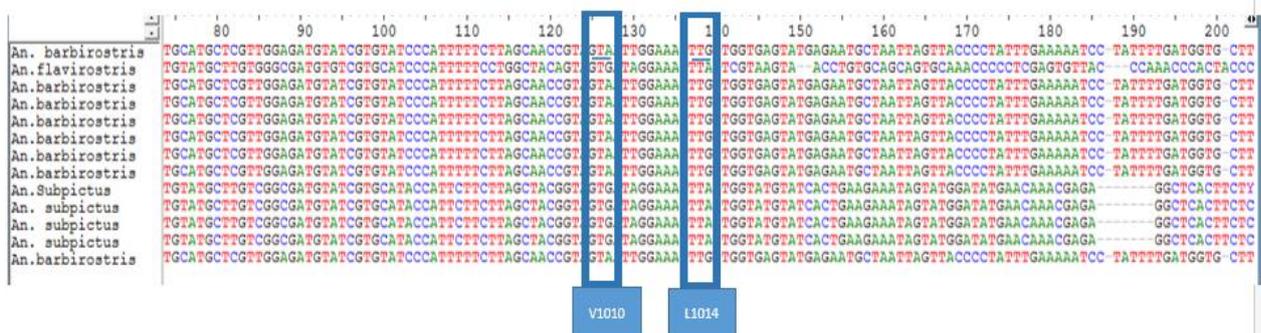
amplifikasi yang berasal dari spesimen *An. subpictus*. Lajur 14 – 17 adalah hasil amplifikasi dari spesimen *An. flavirostris*. Kontrol negatif pada penelitian ini adalah air bebas nuklease. Produk PCR yang diperoleh selanjutnya dikarakterisasi dengan teknik sekuensing nukleotida.

Primer yang digunakan pada tahap sekuensing adalah primer yang sama dengan yang digunakan pada tahap PCR konvensional (gambar 16).



Gambar 13 Analisis homologi hasil sekuensing produk PCR dengan *data base* yang tersedia di Genbank

Hasil sekuensing selanjutnya dianalisis menggunakan teknik *Basic Local Alignment Search Tool* yang diakses dari www.ncbi.nlm.nih.gov menunjukkan produk PCR yang diperoleh terkonfirmasi sebagai fragmen gen *vgsc* dari *Anopheles* spp. Hasil sekuensing dari 13 pool disejajarkan untuk melihat variasi nukleotidanya. Melalui hasil pensejajaran ini terlihat bahwa tidak terdapat mutan pada motif V1010, dan motif L1014 (Gambar 17, dan gambar 18). Melalui data fragmen gen *vgsc*, terlihat bahwa spesies yang paling banyak adalah *An. barbirostris*.



Gambar 14. Hasil pensejajaran sekuens DNA pengkode *vgsc* *Anopheles* spp.

BAB V

PEMBAHASAN

Lokasi penelitian meliputi 2 Kabupaten di Provinsi Maluku yaitu Kabupaten Maluku Tenggara Barat (MTB) dan Kabupaten Maluku Barat Daya (MBD) dan masing –masing Kabupaten di ambil 2 Puskesmas yang merupakan puskesmas dengan angka malaria tinggi.yaitu untuk MTB (Puskesmas Alusi Kelaan dan Puskesmas Waturu) dan MBD (Puskesmas Wonreli dan Puskesmas Ilwaki). Tahun 2013 – 2015 angka API di Kabupaten Maluku Tenggara mengalami penurunan dari 25 ‰ – 15,4 ‰ sedangkan untuk kabupaten Maluku Barat Daya pada tahun mengalami penurunan dari 42 ‰ – 13,2 ‰. Berbagai upaya terus dilakukan untuk menurunkan angka kesakitan malaria antara lain dengan pembagian kelambu yang dilakukan pada tahun 2014,

Alusi Kelaan merupakan ibu kota Kecamatan Kormomolin dimana Puskesmas Alusi berlokasi. Total penduduk di Kecamatan Kormomolin berjumlah 6.108 jiwa dengan mata pencaharian umumnya bertani dan nelayan. Alusi Kelaan merupakan desa endemis tinggi malaria, dimana Desa Alusi kelaan dari tahun 2013-2015 mengalami penurunan *Annual Parasite Index* (API) Desa Kelaan 56,9 ‰ menjadi 41,8 ‰

Puskesmas Waturu terletak di Kecamatan Nirunmas dengan ibu kota Tutukembong. Kecamatan ini memiliki lima wilayah administrasi Desa yaitu Desa Waturu, Desa Tutukembong, Desa Maglusi, Desa Arma dan Desa Watmuri. Desa Waturu dan Desa Tutukembong merupakan daerah dengan kasus malaria yang cukup tinggi. Namun tahun 2013-2015 mengalami penurunan *Annual Parasite Index* (API) Desa waturu dari 108,2 ‰ menjadi 53 ‰

Angka API Kecamatan Ilwaki di kabupaten Maluku Barat Daya pada tahun 2013 – 2015 dilaporkan mengalami penurunan API dari 57,8 ‰ – 22,2 ‰ dan untuk puskesmas

Wonreli pada tahun 2013 – 2015 juga mengalami penurunan yang signifikan dari 26,6% – 1,3%, penurunan angka API ini salah satunya karena penggunaan kelambu oleh masyarakat yang distribusikan oleh dinas kesehatan pada tahun 2014.

Hasil kegiatan *Mass Blood Survey* (MBS) pada bulan Mei 2016 di komunitas masyarakat puskesmas Wonreli diperoleh sample slide sebanyak 218 dan setelah dilakukan pemeriksaan diperoleh hasil Negatif mengandung parasit. Begitu pula halnya di Puskesmas Ilwaki dilakukan MBS sebanyak 208 sampel sediaan darah tebal dan diperoleh positif *P. vivax* satu slide sampel.

Hasil survey MBS menunjukkan kasus malaria turun pada bulan Mei 2016. Penurunan kasus malaria diduga karena adanya kegiatan pengobatan pada penderita malaria sebelum dilakukan survey MBS. Saat dilakukan MBS oleh tim peneliti hanya diperoleh 1 kasus positif malaria positif *Pl. vivax* sedangkan di wilayah PKM Wonreli tidak ditemukan kasus malaria.

Hasil survey habitat di wilayah Puskesmas Alusi Kelaan menunjukkan bahwa *Anopheles* spp banyak ditemukan di saluran air, kolam, kobakan, genangan air pada perahu/sampan. Jenis *Anopheles* sp yang ditemukan pada habitat tersebut yaitu: *An. farauti*, *An. flavirostris*, dan *An. barbirostris* group. Jentik *Anopheles* spp ditemukan pada area pemukiman penduduk dan kawasan perkebunan kelapa. Berdasarkan hasil wawancara dengan petugas kesehatan setempat, habitat *Anopheles* spp terbentuk karena aktifitas manusia seperti pembuatan jembatan dan pelebaran jalan yang akhirnya membentuk genangan air di musim hujan. Kolam semi-permanen, saluran irigasi yang terhambat kayu dan sampah dedaunan juga berpotensi menjadi habitat *Anopheles* spp.

Hasil penelitian di wilayah puskesmas Waturu menunjukkan bahwa *Anopheles* spp banyak di temukan di saluran air, kolam, kobakan. Jenis anopheles yang di temukan adalah,

An. flavirostris, dan *An. barbirostris* group. Jentik *Anopheles* spp di temukan di daerah pemukiman.

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa habitat *Anopheles* di wilayah Puskesmas Ilwaki adalah saluran air, kolam, kobakan dan perahu/sampan. Jenis *Anopheles* yang di temukan adalah *An flavirostris*, *An. barbirostris* group dan *An. subpictus*. Jentik di temukan pada daerah pemukiman penduduk. Habitat yang ditemukan umumnya terbentuk akibat aktifitas manusia dan adanya saluran irigasi yang tersumbat oleh daun dan kayu. Hasil pengamatan di Puskesmas Wonreli menunjukkan bahwa habitat *Anopheles* spp berada di daerah pemukiman yaitu tempat minum ternak dan genangan air pada sampan/perahu di dekat pelabuhan. Jenis nyamuk yang ditemukan adalah *An. barbirostris*.

Hasil penangkapan nyamuk di kampung Alusi kelaan adalah tidak ditemukan nyamuk dewasa didalam kampung melainkan ditemukan di rumah-rumah kebun yang ada di Daerah Weloka dimana jarak antara kampung alusi dengan rumah – rumah kebun di Weloka \pm 1km. Yang mana sangat berpotensi terjadi penularan malaria. penularan malaria sangat berpotensi karena berdasarkan hasil wawancara dengan masyarakat mereka lebih banyak beraktifitas di kebun dari senin – sabtu. Jarak terbang (home Range) nyamuk *Anopheles* betina 1-2 km.

penangkapan nyamuk di Kampung Waturu , tidak ditemukan di dalam kampung melainkan ditemukan di rumah-rumah kebun dan jarak antara rumah kebun dan pemukiman \pm 500m dan sangat berpotensi terjadi penularan malaria, hal ini juga di sebabkan karena aktifitas masyarakat sehari-hari di kebun

penangkapan nyamuk di Kampung Ilwaki di temukan di dalam kampung di mana jarak antara habitat perkembangbiakan dengan rumah penduduk < 100 meter, dan juga ditemukan genangan air dan rawa yang berada di dekat pemukiman penduduk. Daerah

Ilwaki juga masuk dalam daerah rawan penularan malaria karena masih masuk dalam radius jarak terbang nyamuk

Penangkapan nyamuk di kampung wonreli ditemukan didalam kampong sebanyak 3 ekor nyamuk *An.barbirostris* ditemukan juga habitat jentik yaitu di dalam kampong berupa tempat makan ternak dan sampan/perahu dengan jumlah jentik diatas 10 ekor. Berdasarkan data dari puskesmas Wonreli, memang terjadi lonjakan kasus Malaria pada saat ibukota kabupaten di Kisar dan puskesmas Wonreli menjadi rujukan bagi puskesmas-puskesmas di wilayah di sekitar Pulau Kisar. Artinya kasus malaria kemungkinan merupakan kasus impor dari daerah sekitar pulau Kisar seperti Wetar, Moa ataupun Leti yang memang daerah endemis Malaria.

Penangkapan nyamuk di Kabupaten MTB dan MBD dilakukan di dua musim yang berbeda pada bulan Mei – Juni masih masuk angin timur (musim setelah penghujan) sehingga jumlah nyamuk yang tertangkap >300 ekor/malam. Dimana kepadatan nyamuk untuk wilayah puskesmas Alusi meningkat pada pukul 18.00 – 19.00 dan menurun pada pukul 05.00 – 06.00, sedangkan untuk wilayah Puskesmas Waturu terjadi kepadatan nyamuk pada pukul 18.00 – 19.00 dan terjadi penurunan pada pukul 02.00 – 06.00. Untuk Puskesmas Ilwaki terjadi kepadatan nyamuk pada pukul 21.00 – 24.00 dan menurun pada pukul 05.00 – 06.00 sedangkan untuk Puskesmas Wonreli pada saat penangkapan di bulan Juni hanya mendapatkan 1 ekor nyamuk pada pukul 19.00 – 20.00. hal ini dapat di hubungkan dengan data dari BMKG Kabupaten Maluku Tenggara Barat di mana pada bulan Mei – Juni cuaca, suhu, kelembaban sangat cocok untuk perkembangan nyamuk.

Pada bulan September – Oktober sudah masuk musim angin Barat di mana terjadi perubahan waktu kepadatan nyamuk di lokasi penangkapan. Untuk Puskesmas Alusi terjadi kepadatan pada pukul 20.00 – 21.00 kemudian pukul 22.00 menurun dan pukul 23.00 – 24.00 meningkat lagi dan turun pada pukul 05.00 – 06.00, untuk Puskesmas Waturu terjadi

peningkatan pada pukul 22.00 – 23.00 dan menurun pada pukul 05.00 – 06.00, dan untuk Puskesmas Ilwaki terjadi kepadatan pada pukul 23.00 – 24.00 dan menurun pada pukul 05.00 – 06.00. hal ini dapat di hubungkan dengan data dari BMKG Kabupaten Maluku Tenggara Barat, di mana pada bulan September – Oktober , cuaca, suhu, kelembaban sangat cocok untuk perkembangan nyamuk.

Pemeriksaan sirkum sporozoit *P. falciparum* 210 dan *P. vivax* 210 dilakukan pada sampel *An. subpictus* yang ditemukan desa Ilwaki karena mempunyai kepadatan populasi yang tinggi. Hasil konfirmasi vektor dengan pemeriksaan sirkum sporozoit menggunakan metode ELISA pada 264 sampel (pool 5 nyamuk) *An. subpictus* diperoleh 5 sumuran positif *P. vivax* 210 Pemeriksaan sporozoit tidak dilakukan untuk nyamuk dari Kampung Wonreli karena jumlah nyamuk yang tertangkap tidak mencukupi untuk dilakukan uji ELISA.

Terdapat dua merek kelambu dengan bahan aktif yang berbeda yang di gunakan oleh penduduk di Kampung Alusi, Kampung Waturu Kabupaten Maluku Tenggara Barat dan Kampung Ilwaki dan Kampung Wonreli Kabupaten Maluku Barat Daya yaitu Permetrin (deltametrin) dan Olyset (permetrin). Kedua merek kelambu ini direkomendasikan oleh WHO. Jenis kelambu yang baik yang direkomendasikan oleh *World Health Organization Pesticide Evaluation Scheme* (WHOPES) bila memiliki aktifitas biologi hingga pencucian standart 20 kali dengan lama pemakaian 3 tahun.

Sampel kelambu di kabupaten MTB dan MBD dilakukan pencucian dengan jumlah pencucian bervariasi (1x - 5x pencucian), dengan masa penggunaan kelambu selama 2 tahun, namun dengan pengujian dengan *bioassay* terdapat 3 kelambu yang tidak memenuhi syarat untuk keefektifan minimal pada uji bioassay yaitu 1 kelambu di Puskesmas Alusi (pencucian 3x, membunuh sekitar 37%), 1 kelambu di Puskesmas Waturu (pencucian 2x, membunuh sekitar 44% dan 1 kelambu Puskesmas Ilwaki (pencucian 3x, membunuh sekitar 57%) .Beberapa hal diketahui dapat mempengaruhi keefektifan kelambu berinsektisida. Pencucian

kelambu di air dingin dengan tangan tanpa digosok, menggunakan sabun batang tradisional (pH 9-10) berpotensi menyebabkan degradasi deltametrin dibanding dengan deterjen komersial (pH 11-12).²⁴ Hal ini menunjukkan bahwa kelambu berinsektisida yang dijemur panas setelah dicuci ulang lebih cepat penurunan tingkat knockdown dibanding kelambu berinsektisida yang dijemur teduh. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Atieli et al., (2010) mengatakan pada kelambu dengan jenis Permanet tingkat knockdown setelah pencucian ulang 20 kali menjadi 50% pada nyamuk uji *An. Gambiae*³⁰.

Hasil uji *bioassay* hanya dilakukan di 3 kampung yaitu (Kampung Alusi, Waturu dan Ilwaki) sedangkan di kampung wonreli tidak dilakukan pengujian bioassay di karenakan jumlah nyamuk untuk uji tidak mencukupi hal ini disebabkan karena masyarakat di kampung wonreli setiap hari jumat semua warga wajib melakukan pembersihan lingkungan setiap hari jumat, baik instansi pemerintah maupun swasta dan keluarga.. hasilnya sangat bervariasi di masing-masing puskesmas ada yang masih efektif namun ada juga yang tidak efektif, hal ini sangat berkaitan dengan jumlah pencucian, dan penjemuran yang dilakukan oleh masyarakat. Residu insektisida dalam kelambu berkurang karena sinar ultraviolet, kondisi cuaca dan metode pencucian. Etieli et. al., (2010) dalam Firmansyah. Penelitian yang dilakukan oleh Prakash et. al., (2009) menunjukkan pencucian ulang menurunkan efikasi kelambu dengan tingkat mortalitas rata-rata 72,5% pada *Anopheles minimus* dan pada pencucian 11-15 kali menurunkan tingkat mortalitas secara cepat dibandingkan pada pencucian sampai 10 kali. Hasil ini pun sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan bahwa pada pencucian 10-20 kali terlihat penurunan mortalitas nyamuk uji baik pada kelambu jemur panas maupun pada kelambu jemur teduh. Sedangkan pada penelitian Rafinejad et al., (2008) efikasi kelambu berinsektisida menurun, setelah 6 kali pencucian tingkat mortalitas 78%.³¹

Pendapat lain juga diungkapkan pada penelitian di daerah Uganda, bahwa berkurangnya kadar deltametrin pada kondisi lapangan tidak hanya disebabkan karena faktor pencucian semata, tapi dipengaruhi pula oleh paparan faktor lingkungan maupun sering tidaknya kelambu dipegang atau digunakan.

Warna kelambu juga menjadi salah satu hal yang mempengaruhi efikasi kelambu LLINs. Pengaruh pencucian terhadap efikasi bahan aktif deltametrin dan permetrin pada kelambu berwarna telah dilakukan oleh WHO dan hasilnya efikasi kelambu berwarna berbahan aktif deltametrin menurun drastis setelah pencucian pertama, dibanding dengan kelambu putih. Sedangkan kelambu berwarna berbahan aktif permetrin memiliki efikasi yang rendah walaupun tanpa dicuci.

Hasil uji Susceptibility untuk insektisida Permetrin 0,70% dan Deltametrin 0,05% terhadap nyamuk *Anopheles barbirostris* Group, *An. flavirostris* di Kampung Alusi Kelaan dan Kampung Waturu berkisar antara 98,0% - 100% dan *An. subpictus* di Kampung Ilwaki menunjukkan hasil berkisar antara 98% - 99%. Kisaran tersebut masuk dalam kriteria toleran - rentan. Gambaran dari hasil tes kerentanan di atas terlihat bahwa kerentanan nyamuk paling rendah terjadi pada insektisida deltametrin 0,05% yaitu 98,9% kematian dan terjadi pada populasi *An. barbirostris* Group di Kampung Alusi Kelaan dan Kampung Waturu (tabel 18) sedangkan terhadap insektisida Permetrin 0,70% kematian terendah terjadi pada *An. subpictus* di desa Ilwaki dan masih masuk dalam kriteria toleran (perlu di verifikasi). Penelitian monitoring resistensi yang dilakukan oleh Barodji dkk bahwa populasi vektor malaria *An. aconitus* sebagian telah mengalami resistensi terhadap insektisida pyrethroid²⁷. Hasil serupa terjadi pada *An. gambiae* yang telah resisten terhadap DDT. Ternyata juga mengalami resisten silang terhadap insektisida kelompok pyrethroid²⁴. Penelitian yang dilakukan oleh Widiarti dkk, (2005) di Jawa Tengah dan DIY bahwa insektisida kelompok pyrethroid sebagian besar telah menurun kerentanannya terutama *An. aconitus* dan *An. maculatus*²⁹ Perkembangan

resistensi serangga terhadap insektisida menurut David & Gilles dipengaruhi oleh multi faktor yaitu genetik (adanya frekuensi gen spesifik), Operasional (tipe dan aplikasi insektisida) dan biologis (ukuran dan karakteristik populasi vektor)²⁸. Munculnya resistensi vektor tidak melalui proses adaptasi secara gradual terhadap senyawa kimia toksik, tetapi melalui proses percepatan menurut hukum seleksi Darwin yang terjadi di alam. Seleksi terjadi karena terdapat proporsi kecil serangga yang mengalami mutasi genetik secara individual Seperti yang dikatakan Hemingway *et.al.*(2000), bahwa penekanan selektif terjadinya resistensi dapat berlangsung pada saat nyamuk berada pada stadium jentik maupun dewasa¹². Data tersebut didukung oleh data molekular yang dilakukan di Balai Litbang Biomedis Papua yang menunjukkan tidak ada mutasi pada titik V1010 dan L1014. Perubahan konformasi pada struktur *vgsc* menyebabkan molekul insektisida golongan piretroid diblok sehingga tidak dapat mempengaruhi fungsi vital nyamuk. Pada penelitian ini tidak ditemukan mutasi *kdr*, namun kewaspadaan terhadap potensi resistensi harus ditingkatkan karena mutasi *kdr* telah dideteksi pada *Anopheles* spp. di Lampung¹⁴. Mortalitas nyamuk uji diamati dalam 24 jam setelah nyamuk uji dikeluarkan dari cone bioassay test. Kematian nyamuk uji akibat terpapar insektisida umumnya nyamuk yang telah mengalami knockdown sebelumnya. Nyamuk yang mengalami knockdown mengakibatkan kerusakan permanen pada sistem saraf akibat keracunan lebih dari beberapa jam yang terjadi melalui penetrasi kutikula sehingga mengakibatkan kematian nyamuk¹³.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

- a) Nyamuk *Anopheles* spp yang ditemukan di Kabupaten Maluku Tenggara Barat adalah *An. flavirostris*, *An. barbirostris* group (*An. barbirostris* dan *An. campestris*), *An. farauti* dan *An. subpictus*.
- b) Nyamuk *Anopheles* spp yang ditemukan di Kabupaten Maluku Barat Daya adalah, *An. barbirostris* group dan *An. subpictus*.
- c) Hasil konfirmasi vector dengan deteksi antigen sirkum sporosoit metode *Sandwich Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay* (ELISA) ditemukan *An. subpictus* positif mengandung sirkum sporozoit *P. vivax* 210.
- d) Proporsi kasus malaria saat dilakukan *mass blood survey* (MBS) di Desa Ilwaki dari 208 sampel darah ditemukan 1 slide positif *Plasmodium falciparum* (Pf) dan Kampung Wonreli tidak ditemukan slide positif dari 218 slide darah
- e) Hasil Uji *bioessay* terhadap kelambu program yang di bagikan menunjukkan hasil masih efektif.
- f) Hasil uji resistensi secara manual maupun PCR menunjukkan bahwa insektisida golongan permetrin dan deltametrin masih susceptible/peka.

B. Saran

- a) Mengurangi tempat perindukan jentik nyamuk malaria dengan melakukan penimbunan lubang-lubang bekas aktifitas pembuatan jalan yang berpotensi sebagai habitat jentik di musim penghujan. Drum-drum bekas dan perahu yang tidak digunakan lagi dibalik atau dimusnahkan untuk meminimalkan habitat jentik nyamuk

di musim penghujan. Bekas tempurung kelapa juga segera di musnahkan karena berpotensi sebagai habitat perindukan nyamuk.

- b) Petugas kesehatan aktif melakukan *active case detection* (ACD) dan *pasif case detection* (PCD).
- c) Petugas kesehatan tetap aktif melakukan *mass fever survey* (MFS) dan *mass blood survey* (MBS) untuk mencari kasus malaria dengan segera melakukan pengobatan secepat mungkin sehingga tidak terjadi transmisi dari penderita ke nyamuk sehingga siklus hidup parasite dapat dicegah.
- d) Pemberdayaan masyarakat untuk program pengendalian malaria dengan meminimalisasi tempat perkembang biakan jentik nyamuk melalui perbaikan sanitasi lingkungan dan modifikasi lingkungan, penggunaan kelambu berisektisida dan pengurangan aktifitas penduduk di malam hari.
- e) Penerapan tata laksana kasus malaria berat dan ringan untuk menghindari gagal pengobatan dan resistensi obat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Departemen Kesehatan RI, Pedoman Penatalaksanaan Kasus Malaria di Indonesia, Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan, 2006
2. Departemen Kesehatan RI, Buku Pedoman Peringatan Hari Malaria Sedunia ke-2. 2009
3. Provinsi Maluku.profil dinas kesehatan maluku 2013.
http://www.depkes.go.id/download/PROFIL_KES_PROVINSI_2013/30_Profil_Kes_prov.Maluku.2013.pdf
4. Departemen Kesehatan RI, Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar RISKESDAS Provinsi Maluku, 2008.
5. Provinsi Maluku.profil dinas kesehatan maluku 2012
http://www.depkes.go.id/download/PROFIL_KES_PROVINSI_2012/30_Profil_Kes_prov.Maluku.2012.pdf.
6. Insecticide-Treated Nets - National Geographic Education,http://www.cdc.gov/malaria_worldwide/reduction/itn.html
7. WHO, Malaria Entomology and Vektor Control, Part I, Learner's Guide.2002
8. Widiarti., Uji Biokimia Kerentanan Vektor Malaria Terhadap Insektisida Organofosfat dan Karbamat di Provinsi Jawa Tengah dan Daerah Istimewa Yogyakarta, Cermin Dunia Kedokteran,
9. Nazaire Aïzoun, Rock Aïkpon, Roseric Azondekon, Virgile Gnanguenon, Razaki Osse, dkk, Centre for Disease Control and Prevention (CDC) bottle bioassay: A real complementary method to World Health Organization (WHO) susceptibility test for the determination of insecticide susceptibility in malaria vektors, Journal of Parasitology and Vektor Biology,2014,vol.6(3),hal.42-48
10. Ranson H, N'Guessan R, Lines J, Moiroux N, Nkuni Z, Corbel V: Piretroid resistance in African anopheline mosquitoes: what are the implications for malaria control? Trends Parasit 2011, 27(2):91–98.
11. Martins AJ, Valle D: The piretroid knockdown resistance. In: Insecticides -Basic and Other Applications. Edited by Soloneski S, Rijeka LM: In Tech;2012:17-38.
12. Hemingway J, Ranson H: Insecticide resistance in insect vektors of human disease. Annu Rev Entomol 2000, 45:371–391.
13. WHO: Global Plan for Insecticide Resistance Management in Malaria Vektors

- (GPIRM). Geneva: World Health Organization; 2012.
14. Syafruddin D, Hidayati APN, Asih PBS, Hawley WA, Sukowati S, Lobo NF. Detection of 1014F kdr Mutation in Four Major Anopheline Malaria Vektors in Indonesia. *Malaria Journal* 2010, 9:315.
 15. Silva APB, Santos JMM, Martins AJ. Mutations in the Voltage-gated Sodium Channel gene of Anophelines and Their Association with Resistance to Pyrethroids – A Review, *Parasites & Vektors* 2014, 7:450.
 16. Kementerian Kesehatan RI, Pedoman Penatalaksanaan kasus malaria di Indonesia, Direktorat Jenderal pengendalian penyakit dan penyehatan lingkungan 2012
 17. WHO Guidelines for testing mosquito adulticides for indoor residual spraying and treatment of mosquito nets ,2011
 18. Kementerian kesehatan RI, Jendela Data dan Info Kesehatan Epidemiologi Malaria di Indonesia, Buletin malaria, Triwulan I, 2011
 19. Kementerian kesehatan RI, Penatalaksanaan penderita malaria. 2011
 20. Munif, A. Panduan Pengamatan Nyamuk Vektor Malaria. Penerbit Sagung Seto Surabaya. 2009
 21. WHO, Guidelines for testing mosquito adulticides for indoor residual spraying and treatment of mosquito nets, 2006
 22. WHO, techniques to detect insecticide resistance mechanisms (Field and laboratory manual).
 23. The history of the pyrethroid insecticide BBSRC, <http://www.cdc.gov/malaria/about/biology/mosquitoes>
 24. Bass C, Nikou D, Donnelly M, Williamson MS, Ranson H, Ball A, Vontas J, Field LM. Detection of knockdown resistance (kdr) mutations in *Anopheles gambiae*: a comparison of two new high-throughput assays with existing methods. *Malaria*
 25. Soedarto. Malaria; referensi mutakhir Epidemiologi global-Plasmodium Penatalaksanaan penderita malaria. Penerbit Sagung Seto, Surabaya, 2011
 26. Kementerian Kesehatan RI, Pedoman Penggunaan Insectisida, 2012
 27. Barodji, Hadi Suwasono dan Hasan Boesri, Monitoring resistensi vektor malaria terhadap insektisida yang digunakan program P2M di daerah endemis malaria di Jawa-Bali. Laporan Akhir Penelitian Rutin tahun Anggaran 1999/2000 SPVP Puslit Ekologi Kesehatan Badan Litbang Kesehatan Salatiga.
 28. Guillet, protocol of Determination of pyrethroid Diagnostic Concentration of *Anopheles gambiae*. arstom Laboratoire. montpellier, 1996

29. Widiarti, Damar Tri Boewono, Barodji, Mujiono, Uji Kerentanan *Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculatus* terhadap Insektisida Sintetik Pyrethroid di Jawa tengah dan DIY, *Jurnal Ekologi Kesehatan* Vol.4 No.2 Agustus 2005:227-232.
30. Atieli et al. (2010). The effect of repeated washing of long-lasting insecticide-treated nets (LLINs) on the feeding success and survival rates of *Anopheles gambiae*. *Malaria Journal* 2010,
31. Rafinejad J. (2008). Effect of washing on the bioefficacy of insecticide treated nets (ITNs) and long-lasting insecticidal nets (LLINs) against main malaria vector *Anopheles stephensi* by three bioassay methods. *Journal Vector Borne Disease* 45, June 2008, pp. 143–150