

PEMANFAATAN RADIOISOTOP ^{32}P UNTUK PENANDAAN (*LABELLED COMPOUND*) PADA NYAMUK *Aedes aegypti*

Akhid Darwin,* Lulus S.,* dan Ali Rahayu**

USED OF RADIOISOTOP ^{32}P BY LABELLING COMPOUND TO AEDES AEGYPTI

Abstract

An *Ae. aegypti* mosquitoes labelling with Radioisotop ^{32}P was performed at various dose application. The research conducted by Insitute of Vector and Reservoir Control Research and Development, Salatiga in collaboration with The National of Atomic Agency that aimed to know the effective dose and radioactivity disposal of the Radioisotop ^{32}P . The research used several doses: 0,3 μCi (micro currie); 0,5 μCi ; and 0,7 μCi of each 25 gr larvaefood for 50 larvae with dry and wet radiation then observed the effect of radiation against larvae stadium and mosquitoes. The result shows that at 0,5 μCi isotop ^{32}P dose application, *Ae. aegypti* mosquito can survive with 333,3 cps (currie per second) residual radioactivity and detected in 75 cm distance. The Radioisotop ^{32}P can be used as *Ae. aegypti* mosquitoes labelling/markings.

Keywords: Radioisotop ^{32}P , Labelling and *Ae. aegypti*

Pendabuluan

Penyakit demam berdarah dengue (DBD) dan chikungunya merupakan masalah kesehatan masyarakat, terutama di kota-kota besar. Kegiatan survei entomologi sudah diorientasikan pada identifikasi TPA dan surveilans kepadatan nyamuk dewasanya. Penanggulangan dan pencegahan kedua penyakit tersebut mengandalkan pada pemutusan rantai penularan melalui pengendalian *Ae. aegypti*. Selain *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* juga telah diketahui dapat menularkan penyakit DBD. Kedua spesies *Aedes* tersebut mempunyai habitat pada tempat-tempat penampungan air seperti bak mandi, drum air, tempayan, ember, kaleng bekas, vas bunga, botol bekas, potongan bambu, pangkal daun dan lubang-lubang batu yang berisi air jernih.¹ Kebiasaan hidup stadium pradewasa *Ae. aegypti* yaitu pada bejana buatan manusia yang berada di dalam maupun di luar rumah. Sementara

itu, ada beberapa faktor yang mempengaruhi terhadap perletakan telur nyamuk *Aedes* antara lain jenis wadah, warna wadah, air, suhu, kelembaban dan kondisi lingkungan setempat.² Hasil penelitian di Singapura pada tahun 1996 telah diketahui bahwa habitat perindukan *Aedes* di rumah tangga (domestik) antara lain ember, drum, tempayan, baskom (21,9%), diikuti tempat air bekas (18,7%), tempat air hiasan, seperti vas bunga, pot tanaman (17,0%), lekukan pada lantai (8,7%) dan terpal plastik (8,3%).³

Teknik radioisotop merupakan salah satu teknologi yang mengalami kemajuan pesat sejak 49 tahun lalu khususnya di bidang kedokteran, biologi dan pertanian. Salah satu pemanfaatan radioisotop di bidang entomologi adalah teknik disinfeksi radiasi (*indirect killing*) yang lebih dikenal dengan teknik serangga mandul (TSM) dan penanda atau labeling.⁴ Hal ini mengingat salah satu sifat radioisotop yaitu dapat me-

* Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit, Salatiga

** Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi-BATAN, Jakarta

mancarkan sinar radioaktif sehingga dapat dipakai sebagai penanda atau label. Pelabelan ini merupakan cara yang lebih aman bagi sasaran karena isotop tidak meradiasi langsung ke sasaran, akan tetapi melalui media pakan larva. Radioisotop yang sering digunakan untuk penandaan pada serangga antara lain ^3H , ^{32}P dan ^{14}C . Penandaan serangga dengan radioisotop lebih menguntungkan dibandingkan dengan zat warna karena radioisotop yang digunakan dapat inkorporasi atau terikat pada jaringan.⁵

Pemakaian Radioisotop ^{32}P dalam bentuk KH_2PO_4 tidak menimbulkan pengaruh yang berarti bagi serangga terutama kepada manusia. Radioisotop tersebut memiliki waktu paro selama 14,3 hari di alam, yang berarti dalam waktu tersebut kandungan radioaktivitasnya akan menurun separuhnya. Berdasarkan percobaan pelabelan/penandaan dengan Radioisotop ^{32}P terhadap Lalat kedelai (*Ophiomyia phaseoli* Tryon) yang memiliki morfologi lebih kecil dibandingkan nyamuk pada kandungan radioaktivitas mencapai 8.800 cpm tidak mempengaruhi aspek biologi lalat tersebut dan radioaktivitas bertahan kurang lebih tiga bulan.⁶ Pancaran radioaktivitas dapat digunakan sebagai alat bantu dalam pemantauan pola hidup lalat tersebut.

Berdasarkan latar belakang tersebut diatas, maka penelitian pemanfaatan radioisotop untuk *labeling* bertujuan:

- mengetahui dosis Radioisotop ^{32}P yang tepat dan aman untuk penandaan/pelabelan nyamuk *Ae. aegypti*
- mengetahui pengaruh Radioisotop ^{32}P pada stadium larva hingga dewasa
- mengetahui kadar radioaktivitas ^{32}P dan jarak pengamatan pada stadium dewasa

Bahan dan Cara Kerja

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada Bulan Mei sampai dengan Nopember 2006 di Laboratorium B2P2VRP. Pemberian radiasi Radioisotop ^{32}P pada pakan larva (*dogfood*) dilakukan di BATAN Jakarta, sedangkan pengamatan setelah aplikasi terhadap larva hingga dewasa untuk menghasikan dosis tepat, aman dan radioaktivitas serta efek terhadap keturunannya dilakukan di B2P2VRP Salatiga.

Bahan Penelitian

- Pakan larva *Ae. aegypti* yaitu *dogfood* yang mengandung Radioisotop ^{32}P
- Bahan dan alat penangkapan larva dan alat untuk pemeliharaan larva nyamuk sampai menjadi dewasa.
- Peralatan pengukuran lingkungan fisik : termometer, sling hygrometer, alat ukur jarak (survey meter) dan anemometer
- Radioisotop ^{32}P dalam bentuk KH_2PO_4 , *Detector kontaminan* dan *Film Bagde*

Desain Penelitian

Rancangan penelitian adalah eksperimental karena dilakukan dalam skala laboratorium dan semua variabel terkendali.⁷ Penelitian mengkaji tingkat dosis radiasi isotop ^{32}P yang tepat dan aman untuk penandaan atau pelabelan nyamuk *Ae. aegypti* dan efek radiasi terhadap keturunannya.

Cara Kerja

- Pengumpulan larva nyamuk

Larva *Ae. aegypti* yang digunakan berumur relatif sama yaitu stadium III awal berasal dari hasil koloni labolatorium B2P2VRP Salatiga.

- Penentuan dosis aplikasi Radioisotop ^{32}P skala laboratorium

Dosis aplikasi 0,30 μCi ; 0,5 μCi dan 0,70 μCi baik radioisotop kering maupun berwujud cair untuk 0,25 gr pakan larva setiap 50 ekor larva kemudian dilihat perkembangannya setelah aplikasi. Masing-masing dosis pengulangan sebanyak tiga kali.

- Aplikasi Radioisotop ^{32}P

Radioisotop ^{32}P pada pakan larva (*dogfood*) dilakukan di BATAN Jakarta, kemudian diberikan ke larva *Ae. aegypti* stadium III awal di B2P2VRP Salatiga untuk diamati perkembangan, kematian serta efeknya terhadap keturunan. Aplikasi Radioisotop dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan.

- Pengukuran Radioaktivitas Isotop ^{32}P

Tingkat radioaktivitas ditentukan oleh banyak sedikitnya kadar radioaktif yang masuk kedalam tubuh larva hingga stadium dewasa. Pengukuran radioaktivitas dilakukan dengan cara mendeteksi secara kuantitatif berdasarkan durasi waktu/hari menggunakan alat detektor kontaminan.

e). Pengamatan efek radioisotop pada larva, nyamuk serta keturunannya

Efek Radioisotop pada larva dapat berupa kematian ataupun terhambatnya pertumbuhan menjadi pupa, sedangkan pada nyamuk dapat berupa kecacatan dan umur nyamuk menjadi pendek. Pada keturunannya, diamati secara kuantitatif kandungan radioaktivitas isotop menggunakan *detector contaminant*.

Analisis Data

Data dosis Radioisotop ^{32}P , radioaktivitas Isotop ^{32}P , efek pertumbuhan dan kematian larva, umur nyamuk dan efek pada keturunan *Ae. aegypti* dibandingkan dengan kelompok kontrol menggunakan fasilitas SPSS versi 15.00 program statistik *independent t-test*.⁸

Hasil Penelitian

Pengaruh pemberian makanan yang telah

diradiasi ^{32}P menghasilkan variasi *intake* pakan dan tingkat ketahanan larva terhadap radioisotop. Sebagaimana disajikan pada tabel 1.

Aktivitas memakan yang digambarkan perbedaan jumlah pakan yang dikonsumsi oleh larva terlihat pada kandungan atau kadar radioaktivitas isotop ^{32}P yang terdeteksi di dalamnya. Pengamatan dilakukan setiap minggu selama 3 minggu sesuai dengan rata-rata kehidupan nyamuk *Ae. aegypti* di laboratorium. Sebagaimana disajikan pada tabel 2.

Dalam penelitian dilakukan juga pengukuran jarak dan kadar radioaktivitas di luar gedung (semi lapangan). Kegiatan ini dilakukan pada minggu ke-3 bertujuan untuk mengetahui sensitivitas alat detektor kontaminan di lapangan. Hasil pengukuran selengkapnya pada tabel 3.

Sedangkan pengamatan rentang hidup terhadap keturunan pertama (F1) pada nyamuk *Ae. aegypti* dijumpai adanya perbedaan yang

Tabel 1. Rata-Rata Prosentase Kematian Larva Setelah Aplikasi Pakan Beradiosotop ^{32}P

Spesies Larva	Dosis ^{32}P	% Kematian	Kontrol
	0,3 μCi	5,96	
Larva <i>Ae. aegypti</i>	0,5 μCi	9,85	8,82
	0,7 μCi	37,38	

Keterangan: μCi = *micro currie* cps = *currie per second*

Tabel 2. Rata-rata Kandungan Radioaktivitas ^{32}P pada nyamuk *Ae. aegypti*

Spesies Nyamuk	Dosis ^{32}P	Radioaktivitas cps per minggu		
		I	II	III
<i>Ae. aegypti</i>	0,3 μCi	605	390	300
	0,5 μCi	656,6	407	333,3
	0,7 μCi	685	435	356

Keterangan: μCi = *micro currie* cps = *currie per second*

Tabel 3. Rata-rata Radioaktivitas terdeteksi dan Jarak pengukuran pada nyamuk *Ae. aegypti*

Spesies Nyamuk	Dosis ^{32}P	Jarak Ukur (cm)	Radioaktivitas (cps)
<i>Ae. aegypti</i>	0,3 μCi	65	30
	0,5 μCi	75	40
	0,7 μCi	80	55

Keterangan: μCi = *mikro currie* cps = *currie per second*

Tabel 4. Rata-Rata Rentang Hidup Nyamuk *Ae. Aegypti* Pada Keturunan Pertama (F1)

Spesies Nyamuk	Dosis ³² P	Rentang Hidup (Hari)	Kontrol (Hari)
<i>Ae. aegypti</i>	0,3 µCi	13-23	
	0,5 µCi	17-23	16-24
	0,7 µCi	15-22	

relatif kecil antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Aplikasi radioisotop ³²P dosis 0,5 µCi relatif sama dengan kelompok kontrol. Sebagaimana disajikan pada tabel 4.

Pembahasan

Perkembangan Larva-Nyamuk *Ae. Aegypti* Setelah Aplikasi Radioisotop ³²P

Pada tabel 1. terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik ($p < 0,05$) rata-rata prosentase kematian larva setelah konsumsi pakan beradioisotop ³²P pada dosis: 0,3 µCi ; 0,5 µCi dan 0,7 µCi. Dosis aplikasi radioisotop ³²P sebesar ; 0,5 µCi menunjukkan jumlah kematian pasca aplikasi relatif sama dibandingkan kelompok kontrol. Adanya perbedaan jumlah kematian antara kelompok perlakuan pada berbagai dosis aplikasi dikarenakan frekwensi memakan (kuantitatif) dan kemampuan atau ketahanan larva terhadap senyawa asing/racun. Kemampuan mengubah senyawa beracun menjadi tidak berbahaya bagi tubuh disebut detoksifikasi dan ini berlaku juga pada larva.⁹ Enzim utama pada serangga yang berperan dalam mendetoksifikasi insektisida yaitu enzim esterase. Proses detoksifikasi ini merupakan awal terjadinya resistensi. Ada tiga enzim yang berperan dalam resistensi metabolik yaitu *Glutathione S-transferase*, *Mixed Function Oxidase* (MFO) dan Enzim esterase.¹⁰

Nutrisi sangat penting bagi pertumbuhan dan perkembangan larva, beberapa penelitian mengenai hal tersebut telah menghasilkan pakan untuk larva. Cadangan makan dalam bentuk lemak dan glikogen disimpan dalam *cytoplasma sel-sel fat body*. Jaringan otot juga menyimpan glikogen dan protein. Selain di *sel fat body* lemak juga disimpan di *sel-sel caeca* dan usus tengah bagian anterior. Stadium larva merupakan stadia aktif makan. Sebagian besar larva makan mikroplanton yang terdapat di lingkungan

hidupnya seperti lumut, *rotifere*, protozoa dan spora jamur. Makanan tersebut masuk dengan berbagai cara meskipun kebanyakan dengan cara tersaring (*filter feeding*).

Demikian pula radioisotop ³²P yang terkandung di dalam pakan larva, hasil metabolisme yang berupa substansi tak berguna dari *haemolymph* diekskresikan melalui *tubulus malpighi* dan *rectum*. Sel fat body berfungsi pula sebagai ginjal yang menampung asam urat kemudian dilepas ke *haemolymph* lalu ke *tubulus malpighi*.¹¹ Radioisotop akan menempel di sepanjang saluran pencernaan dan akan terdeteksi oleh alat detektor kontaminan.

Larva *Ae. aegypti* aktif memakan dengan menggerogoti dan menarik pakan ke dalam mulutnya. Untuk makanan berukuran besar dilakukan dengan cara menggerogoti kemudian menelan atau memecah dan menelannya (crustacea dan plankton). Susunan alat pencernaan larva memiliki derajat keasaman yang berbeda-beda seperti caeca (sedikit asam), lambung (makin ke posterior alkalis kuat), tubulus malpighi (alkalis lemah). Hasil pencernaan diserap di berbagai bagian usus, misalnya lemak diserap oleh usus tengah bagian anterior, sementara gula dan asam amino di usus tengah bagian posterior, caeca menyerap lemak, gula dan asam amino. Sepanjang alat pencernaan, pakan larva yang mengandung radioaktif ³²P akan terdeteksi dengan detektor kontaminan.

Selama stadium larva terjadi empat kali *molting* atau pergantian kulit dan berubah ke stadium pupa. Proses fisiologis, pergantian eksokutikula lama dengan yang baru disertai perubahan bentuk dipacu oleh kerja hormon ekdison yang dihasilkan kelenjar toraxis sehingga proses ekdisis berjalan sesuai umurnya. Di samping itu untuk menahan laju proses ekdisis maka diimbangi oleh hormon *juvenil* yang dihasilkan kelenjar *corpora alata* untuk menghambat ekdisis sehingga akan memper-

lambat masa pradewasa.¹² Proses metamorfosis tersebut dipengaruhi oleh jenis, kualitas dan kuantitas makanan stadium larva. Pengukuran radioaktivitas ³²P juga dilakukan pada selubung/kulit bekas pupa dengan hasil tidak ada beda secara bermakna antara selubung pupa pada dosis aplikasi 0,3 μ Ci; 0,5 μ Ci dan 0,7 μ Ci, yang berarti kadar radioaktif dalam selubung pupa jumlahnya relatif sama.

Radioaktivitas ³²P pada Nyamuk *Ae. aegypti*

Pada stadium dewasa menunjukkan perbedaan yang berarti ($p < 0,05$) antara dosis aplikasi ³²P 0,3 μ Ci; 0,5 μ Ci dan 0,7 μ Ci. Aktivitas memakan pada stadium larva dan kadar isotop digambarkan dengan adanya perbedaan radioaktivitas yang terdeteksi oleh alat radio-detektor kontaminan. Perbedaan tersebut dipengaruhi oleh aktivitas memakan pada stadium larva baik kualitas dan kuantitas makanan. Pengukuran terhadap nyamuk dewasa pada minggu III rata-rata sebesar 333,3 cps dan minggu I sebesar 656,6 cps yang berarti terdapat penyusutan radioaktivitas. Berdasarkan waktu paro, ³²P memiliki waktu 14,3 hari kadar radioaktivitas akan berkurang setengahnya, maka dengan demikian terdapat suatu pelepasan radioaktivitas di luar alamiah. Penyusutan radioaktivitas dapat terjadi dalam dua jalan yaitu penyusutan alamiah mengikuti waktu paro dan penyusutan karena aktivitas pelepasan pada obyek.¹³ Selama siklus hidupnya larva nyamuk mengalami 4 kali pergantian kulit (*molting*) yang berdampak pada pengurangan radioaktivitas melalui kupasan kulit tersebut. Selain itu pada stadium larva dan nyamuk dewasa, secara fisiologis dalam metabolisme sel akan mengeluarkan produk yang tidak berguna melalui sekresi dan pori-pori. Bersamaan dengan itu akan keluar pula radioisotop. Pada stadium dewasa ini sangat penting dalam mendeteksi penyebaran (*flight range*) nyamuk dari tempat perindukanya, oleh sebab itu dilakukan pengukuran radioaktivitas dan jarak pengukuran.

Jarak Pengukuran dan Radioaktivitas pada Nyamuk *Ae. aegypti*

Keturunan pertama (F1) pada nyamuk *Ae. aegypti* berumur 3 minggu mengandung radioaktivitas ³²P sebesar 333,3 μ Ci dan terdeteksi pada jarak 75 cm dengan 40 μ Ci. Kandungan

radioaktivitas tersebut relatif kecil hampir sama dengan kontaminan lingkungan dan tidak mempengaruhi fisiologis nyamuk. Secara alamiah lingkungan (lantai atau tembok rumah) akan memancarkan radioaktivitas walaupun jumlahnya relatif kecil, berkisar antara 15-20 μ Ci.¹⁴

Kesimpulan

Dari hasil pembahasan penelitian dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Dosis Radioisotop ³²P yang tepat dan aman untuk penandaan/pelabelan nyamuk *Ae. Aegypti* adalah 0,5 μ Ci
2. Dosis Radioisotop ³²P 0,5 μ Ci tidak berpengaruh secara berarti terhadap pertumbuhan larva dan nyamuk *Ae. aegypti*
3. Efektivitas Radioisotop ³²P 0,5 μ Ci terdeteksi dalam nyamuk *Ae. aegypti* pada jarak 75 cm dengan kandungan radioaktivitas sebesar 333,3 μ Ci pada minggu ke-3

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada sdr. Tri Suwaryono, teknisi laboratorium uji kaji insektisida B2P2VRP atas bantuan yang telah diberikan selama penelitian berlangsung.

Daftar Pustaka

1. Fock DA and DD. Cladee., *Pupal Survey an epidemiologically signifi-cant surveillance method for Ae. aegypti : an example using data from Trinidad. Am.J. Trop. Med.Hyg.* 1997. 56:159-167.
2. WHO., Pencegahan dan Penanggulangan Penyakit Demam Berdarah dan Demam Berdarah Dengue. Terjm. *WHO Regional Publication SEARO No.29.* WHO dan Dep.Kes. RI. 2000. Hal.53
3. Tan., BT and BT. Teo., *Modus Operandi Aedes Surveillance and Control.* Dalam Dengue in Singapore. Published Institute of Environmental Epidemiology. Ministry of the Environment Singapore. 1998
4. LA CHANCE, L.E. Genetics and Genetic Manipulation Techniques, *proc. of FAO/IAEA Training Course on the Use of Radioisotopes and Radiation in Entomology, univ. of florida,* 1979. P.97-99

-
5. KLASSEN, W.. Strategies for Managing Pest Problems, Proc. of FAO/IAEA Training Course on the Use of Radioisotopes and Radiation in Entomology, Univ. of Florida. 1977. P. 248–283
 6. Ali Rahayu. Viabilitas Lalat Bibit *Ophiomyia phaseoli* Tryon. Pada Tanaman Kedelai Bertanda ³²P . Risalah Simposium IV Aplikasi Isotop dan Radiasi, PAIR-Batan, Jakarta 13-15 Desember 1989
 7. Murti Bhisma. Prinsip dan Metode Riset Epidemiologi. Gadjah Mada University. Yogyakarta. 1997
 8. Tim Wahana Komputer, Pengolahan Data Statistik dengan SPSS 15.00, Salemba Infotek. Jakarta. 2003
 9. Gandahusada, S. Illahude, HD., Pribadi, W., Prasitologi Kedokteran, ed. III, 164-180, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta. 1998,
 10. Jensen. S.E., Insecticide Resitance in The Western Flower Thrips, *Fizankliniella Occidentalis*, Department of Life Sciences and Chemistry, Roskilde University, USA. 2000
 11. Nation, J.L. *Insect physiology and biochemistry*. CRC Press, Boca Raton. 2001.
 12. Boyguet, D., M. Prout dan M. Raymond. Dominance of Insecticide Resistance Present a Plastic Response. Institut of Evolution Science. France. 1996
 13. BROWN, J.K. *Radiation Biology, Radioisotope Course for Graduates*, Australian School of nuclear Technology Lucas Height. 1973.
 14. LANNUNZIATA, M. F., and LEGG, J.O. *Isotopes and Radiation in Agricultural Sciences*, Vol.I Soil - Plant - Water Relationships, Academic Press, London Orlando, San Diego, San Francisco, New York, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, Sao Paulo. 1980