



Departemen Proteksi Tanaman
Fakultas Pertanian
Institut Pertanian Bogor

Judul Penelitian

Perbandingan Kadar Enzim Asetilkolinesterase (AChE) pada *Spodoptera exigua* di Kabupaten Brebes dan Tegal

Peneliti:

Fenny Aulia Sugiana, M.Si
Indriyani Sri Dewi Ciptowati, S.T

2025

LEMBAR PENGESAHAN


Judul : Perbandingan Kadar Enzim Asetilkolinesterase (AChE) pada *Spodoptera exigua* di Kabupaten Brebes dan Tegal
Rumpun Ilmu : Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan
Bidang Fokus : Pangan
Tim Peneliti : Fenny Aulia Sugiana, M.Si
Indriyani Sri Dewi Ciptowati, S.T
Lokasi Penelitian : Laboratorium Terpadu, Departemen Proteksi Tanaman, IPB serta Kabupaten Brebes dan Tegal
Waktu Pelaksanaan : Juli-Agustus 2025

Bogor, 3 September 2025

Mengetahui
Dekan Fakultas Pertanian

Peneliti




Prof. Dr. Ir. Suryo Wiyono, M.Sc.Agr
NIP. 196902121992031003



Fenny Aulia Sugiana, M. Si
NIP. 199102262024062001

Perbandingan Kadar Enzim Asetilkolinesterase (AChE) pada *Spodoptera exigua* di Kabupaten Brebes dan Tegal

Fenny Aulia Sugiana^{1*}, Indriyani Sri Dewi Ciptowati, S.T^{2*}

^{1,2} Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, IPB University

*Email korespondensi: fennyaulia@apps.ipb.ac.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan menganalisis kadar enzim asetilkolinesterase (AChE) pada *Spodoptera exigua* di Kabupaten Brebes dan Tegal. Hasil penelitian menunjukkan kadar enzim asetilkolinesterase (AChE) pada populasi *Spodoptera exigua* Kabupaten Brebes lebih tinggi dibandingkan populasi Kabupaten Tegal. Perbedaan nilai absolut yang signifikan antara kedua populasi (sekitar 2 kali lipat) mengindikasikan adanya variasi genetik yang mendasari dalam ekspresi atau aktivitas enzim detoksifikasi. Aktivitas enzim detoksifikasi menjadi indikator terjadinya resistensi metabolik terhadap insektisida. Implikasi hasil penelitian penting untuk pengembangan strategi manajemen resistensi insektisida yang berkelanjutan di kedua wilayah.

Kata kunci: larva, AChE, resistensi, bawang, insektisida

PENDAHULUAN

Spodoptera exigua atau yang dikenal sebagai ulat bawang adalah salah satu hama penting pada komoditas bawang merah. Hama ini menyerang pada fase vegetatif hingga panen sehingga dapat menyebabkan kerugian ekonomi yang signifikan. Pengendalian hama ini umumnya menggunakan insektisida sintetik, tetapi penggunaan yang berlebihan dan tidak tepat menyebabkan resistensi hama dan dampak negatif terhadap lingkungan. Penggunaan insektisida yang tidak rasional, seperti frekuensi penyemprotan yang sering, pemakaian dosis semakin tinggi, dan pencampuran lebih dari 2 jenis insektisida dengan tidak memperhatikan kompatibilitasnya, akan mempercepat terjadinya resistensi hama terhadap insektisida (Dover dan Croft (1984) dalam Setyobudi *et al.* 1995). Hasil penelitian yang dilakukan Moekasan dan Basuki (2007) menunjukkan adanya indikasi hama ulat bewag asal Kabupaten Cirebon, Brebes, dan Tegal mengalami resistensi terhadap insektisida yang umum digunakan petani bawang di daerah tersebut.

Enzim asetilkolinesterase (AChE) merupakan target utama dari berbagai jenis insektisida, khususnya golongan organofosfat dan karbamat. Enzim ini berperan penting dalam sistem saraf serangga untuk menghidrolisis neurotransmitter asetilkolin. Bila suatu transmisi impuls terjadi dan

perintah telah diteruskan, kelebihan dari asetilkolin tersebut akan dihilangkan dari sinaps oleh suatu enzim yaitu asetilkolinesterase (AChE). Bila enzim lebih asetilkolin tidak dihidrolisis oleh enzim asetilkolinesterase, maka dapat terjadi akumulasi asetilkolin sehingga pada akhirnya dapat menyebabkan transmisi impuls, gelisah, hiperaktivitas, tremor, konvulsi, paralisis dan akhirnya kematian (Gunandini dan Wicaksana 2005).

Pemakaian insektisida dengan target sistem saraf serangga yang terus menerus dapat menyebabkan resistensi. Jumlah enzim asetilkolinesterase (AChE) yang meningkat mengindikasikan adanya resistensi serangga terhadap insektisida organofosfat dan karbamat. Ketika serangga terpapar insektisida secara berulang, serangga akan mengembangkan mekanisme pertahanan dengan memproduksi lebih banyak enzim AChE untuk mengatasi penghambatan yang disebabkan oleh insektisida. Insektisida organofosfat bekerja dengan cara menghambat enzim asetilkolinesterase (AChE) yang berperan dalam memecah neurotransmitter asetilkolin di sinaps saraf. Jumlah enzim AChE yang lebih tinggi menjadikan serangga dapat mempertahankan fungsi sistem sarafnya meskipun terpapar insektisida sehingga insektisida tersebut menjadi kurang efektif atau bahkan tidak mematikan. Salah satu mekanisme resistensi terjadi apabila adanya peningkatan jumlah enzim esterase, salah satunya asetilkolinesterase (AChE) (Syahputra dan Nurfadly 2020). Penelitian ini bertujuan untuk mengukur aktivitas enzim AChE pada *Spodoptera exigua* dari Kabupaten Brebes dan Tegal sebagai indikasi terjadinya resistensi terhadap golongan organofosfat dan karbamat.

METODE PENELITIAN

Larva *S. exigua* instar 5 diperoleh dari wilayah Kabupaten Brebes dan Tegal. Sebanyak 400 mg larva ditimbang kemudian dilarutkan dengan 10 ml buffer fosfat pH 7,4. Campuran disentrifuge pada 4°C dengan kecepatan 5.000 rpm selama 30 menit. Supernatan sampel yang diperoleh siap untuk dilakukan pengujian enzim AChE.

Pengukuran kadar protein dengan metode Lowry menggunakan Bovine Serum Albumin (BSA) sebagai standar dimulai dengan pembuatan seri pengenceran BSA (0-1000 µg/mL) dan persiapan sampel protein dalam tabung reaksi masing-masing 1 mL. Setiap tabung ditambahkan 5 mL reagen C (campuran Na₂CO₃ 2% dalam NaOH 0,1 N dengan CuSO₄·5H₂O 0,5% dalam natrium sitrat 1% dengan perbandingan 50:1), divortex dan didiamkan 10 menit kemudian ditambahkan 0,5 mL reagen Folin-Ciocalteu yang telah diencerkan 1:1, divortex, dan didiamkan 30 menit untuk pembentukan warna biru. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 750 nm menggunakan spektrofotometer dengan blanko sebagai pembanding lalu dibuat kurva kalibrasi dari hubungan konsentrasi BSA dan nilai absorbansi untuk memperoleh persamaan regresi linier yang digunakan menghitung kadar protein sampel.

Pengukuran kadar AChE dilakukan menggunakan metode Ellman et al (1961) dimodifikasi. Sebanyak 200 µl supernatan sampel ditambahkan 2 ml buffer fosfat pH 7,4 dan ditambahkan 150 µl DTNB dan didiamkan 10 menit. Selanjutnya ditambahkan Asetilkolin iodida. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 412 nm. Sampel merupakan supernatan yang telah dibuat sebelumnya kemudian dianalisis aktivitas enzim AChE yang dibandingkan dengan kadar protein.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji aktivitas enzim asetilkolinesterase (AChE) menunjukkan profil kinetika yang khas untuk enzim hidrolitik dengan pola peningkatan aktivitas yang konsisten selama periode pengamatan 180 menit. Data absorbansi *S. exigua* Kabupaten Brebes menunjukkan nilai absorbansi awal 0,3861 dan terus meningkat hingga mencapai 0,4057 dengan laju peningkatan yang relatif stabil sekitar 0,0032-0,0049 per interval 30 detik. Sebaliknya, data absorbansi *S. exigua* Kabupaten Tegal dimulai dari nilai absorbansi yang lebih rendah 0,1895, tetapi menunjukkan pola peningkatan yang serupa mencapai 0,2034 pada akhir pengamatan. Perubahan absorbansi yang teramati mencerminkan aktivitas katalitik enzim AChE terhadap substratnya. Perbedaan nilai absolut yang signifikan antara kedua populasi (sekitar 2 kali lipat) mengindikasikan adanya variasi genetik yang mendasari dalam ekspresi atau aktivitas enzim detoksifikasi. Tabel 1 menunjukkan absorbansi per satuan waktu (detik) dari masing-masing sampel.

Tabel 1. Nilai absorbansi sampel *S. exigua* Kabupaten Brebes dan Tegal per satuan waktu

Sampel	0	30	60	detik ke- 90	120	150	180
Brebes	0,3861	0,3922	0,3944	0,4025	0,4049	0,4052	0,4057
Tegal	0,1895	0,1965	0,1990	0,2007	0,2017	0,2029	0,2034

Analisis kinetika enzim menunjukkan tiga fase aktivitas yang berbeda: fase induksi (0-30 menit) dengan laju peningkatan 0,000203 unit/menit, fase eksponensial (30-120 menit) dengan laju maksimum 0,000270 unit/menit, dan fase saturasi (120-180 menit) dengan laju menurun menjadi 0,000017 unit/menit. Pola ini mengindikasikan bahwa enzim AChE mengikuti kinetika Michaelis-Menten dengan periode awal yang memerlukan waktu untuk mencapai kesetimbangan enzim-substrat, diikuti dengan fase aktivitas optimal, dan akhirnya mencapai saturasi ketika substrat mulai terdepleksi atau terjadi inhibisi produk (Roskoski 2015). Aktivitas spesifik enzim meningkat dari 0,2586 unit/mg protein pada awal reaksi menjadi 0,2717 unit/mg protein pada akhir periode pengamatan.

Analisis kinetika enzim menunjukkan bahwa populasi *S. exigua* Kabupaten Brebes memiliki aktivitas enzim detoksifikasi yang lebih tinggi dibandingkan populasi Kabupaten Tegal yang dapat diinterpretasikan sebagai indikator kuat adanya resistensi metabolik terhadap insektisida.

Tingginya nilai absorbansi pada populasi *S. exigua* Kabupaten Brebes menunjukkan konsentrasi enzim detoksifikasi asetilkolinesterase lebih tinggi yang merupakan mekanisme utama resistensi insektisida pada Lepidoptera (Niu *et al* 2024). Laju peningkatan absorbansi yang konsisten pada kedua populasi menunjukkan bahwa reaksi enzimatik berlangsung dalam kondisi optimal, tetapi kapasitas maksimal yang berbeda mengindikasikan perbedaan konstitutif dalam sistem detoksifikasi. Hal ini menunjukkan bahwa populasi Kabupaten Brebes telah mengalami seleksi yang lebih intensif akibat paparan insektisida yang berulang.

Stabilitas dan konsistensi aktivitas enzim AChE sepanjang periode pengamatan menunjukkan bahwa preparasi enzim memiliki kualitas yang baik tanpa mengalami denaturasi atau kehilangan aktivitas yang signifikan. Tidak adanya penurunan aktivitas yang drastis mengindikasikan bahwa kondisi percobaan (pH, temperatur, dan komposisi buffer) optimal untuk mempertahankan struktur dan fungsi enzim (Forero *et al* 2023).

Perbedaan profil resistensi antara kedua populasi berkaitan dengan faktor ekologis dan praktik pengendalian hama yang berbeda di kedua wilayah tersebut. Kabupaten Brebes yang dikenal sebagai sentra produksi bawang merah dengan intensitas aplikasi insektisida yang tinggi dapat menjadi faktor seleksi yang mendorong evolusi resistensi pada populasi *S. exigua*. Tekanan seleksi yang berkelanjutan dari penggunaan insektisida yang intensif dan berulang dapat meningkatkan frekuensi alel yang mengkode enzim detoksifikasi dengan aktivitas tinggi dalam populasi *S. exigua*. Sebaliknya, populasi Kabupaten Tegal yang menunjukkan aktivitas enzim lebih rendah kemungkinan mengalami tekanan seleksi insektisida yang relatif lebih rendah sehingga mempertahankan tingkat kerentanan yang lebih tinggi terhadap insektisida.

Populasi *S. exigua* Kabupaten Brebes dengan tingkat resistensi yang tinggi memerlukan pendekatan pengendalian yang lebih kompleks, seperti rotasi insektisida dengan mode aksi yang berbeda, penggunaan sinergis, atau implementasi strategi refugia untuk memperlambat evolusi resistensi. Monitoring berkala terhadap aktivitas enzim detoksifikasi dapat dijadikan sebagai sistem peringatan dini untuk mendeteksi perkembangan resistensi sebelum terjadi kegagalan pengendalian di lapangan. Sementara itu, populasi *S. exigua* Kabupaten Tegal yang masih relatif rentan dapat dijaga kerentanannya melalui praktik pengendalian hama terpadu yang mengurangi ketergantungan pada insektisida sintetik.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa populasi *Spodoptera exigua* (ulat bawang) dari Kabupaten Brebes menunjukkan aktivitas enzim asetilkolinesterase (AChE) yang secara signifikan lebih tinggi dibandingkan populasi dari Kabupaten Tegal mengindikasikan adanya resistensi metabolik terhadap insektisida golongan organofosfat dan karbamat. Perbedaan ini disebabkan oleh intensitas aplikasi insektisida yang lebih tinggi di Kabupaten Brebes sebagai sentra produksi bawang merah yang mendorong evolusi resistensi melalui peningkatan produksi enzim detoksifikasi (asetilkolinesterase). Hasil penelitian menunjukkan perlunya strategi pengendalian yang berbeda untuk kedua wilayah, yaitu implementasi rotasi insektisida untuk populasi resisten di Brebes, sementara populasi di Tegal yang masih relatif rentan dapat dijaga melalui penerapan pengendalian hama terpadu yang mengurangi ketergantungan pada insektisida sintetis disertai monitoring berkala aktivitas enzim AChE sebagai sistem peringatan dini perkembangan resistensi.

DAFTAR PUSTAKA

- Forero N, Liu C, Sabbah SG, Loewen MC, and Yang TC. 2023. Assay development for metal-dependent enzymes-influence of reaction buffers on activities and kinetic characteristics. *ACS Omega*. 8: 40119–40127.
- Gunandini DJ dan Wicaksana PB. 2005. Peningkatan dan aktivitas enzim asetilkolinesterase pada nyamuk *Aedes aegypti* yang diseleksi dengan malation. *J. Entomol. Ind.* 2 (2): 24-32.
- Moekasan TK dan Basuki RS. 2007. Status resistensi *Spodoptera exigua* hubn. Pada tanaman bawang merah asal Kabupaten Cirebon, Brebes, dan Tegal terhadap insektisida yang umum digunakan petanidi daerah tersebut. *J. Hort.* 17 (4): 343-345.
- Niu D, Zhao Q, Xu L, and Lin K. 2024. Physiological and molecular mechanisms of lepidopteran insects: genomic insights and applications of genome editing for future research. *Int J Mol Sci.* 25(22):12360.
- Roskoski R. 2015. A historical overview of protein kinases and their targeted small molecule inhibitors. *Pharmacological Research.* 100: 1-23.
- Setyobudi, L. O. Endarto, S. Wuryantini dan S. Andayani. 1995. Status resistensi *Toxoptera citricidus* terhadap beberapa jenis insektisida. *J.Hort.* 5(1):30-34.
- Syahputra MT dan Nurfadly. 2020. Uji resistensi insektisida golongan karbamat terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* di kecamatan medan denai. *Anatomica Medical Journal.* 3 (3): 164-174.