

Deteksi Resistensi Larva *Aedes aegypti* dengan Uji Biokimia Berdasarkan Aktivitas Enzim Esterase di Kabupaten Bantul DIY

*Resistance Detection on *Aedes aegypti* Larvae in Bantul District, Yogyakarta Using A Biochemical Assay Based on The Activity of Esterase Enzyme*

Rizki Anindita¹, Tri Wulandari Kesetyaningsih²

¹Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, ²Bagian Parasitologi, Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah

Abstract

*Dengue Hemorrhagic Fever is a health problem in Indonesia, including the Bantul District, Yogyakarta. This disease is transmitted over a bite of *Aedes sp* mosquitoes. Preventive action is done by vanishing DHF vectors along with its nest. In Yogyakarta 1974, the usage of chemical insecticide, e.g. organofosfat (temefos, malathion), became a choice. In fact, the usage of temefos and malathion in a long period of time are potentially causing a resistance effect. This research aims to find out the resistance status of *Aedes aegypti* larvae in Bantul District with a biochemical assay based on the activity increase of esterase enzyme.*

*Research is done non-experimentally with quantitative measurement for its result. Larva samples were collected from three villages, which are DHF endemic area. To detect the activity of esterase enzyme, a biochemical assay was used in this research by creating a reaction between larvae homogenate and *á* naphtyl acetat substrate. The results of reaction were read using ELISA reader with a wavelength of 450 nm.*

*Overall, the research results show that 84.45% larvae are still susceptible, 13.33% larvae are mild resistance, and 2.22% larvae are high resistance to insecticide. The statistic result with oneway ANOVA ($\alpha = 0.877$) shows that there is no significant differentiation on the resistance status of larvae among the three villages. The result indicates that the insecticide resistance tendency of *Aedes aegypti* larvae in Bantul District, Yogyakarta, is still low ($\alpha > 0.05$).*

*Keywords : *Aedes aegypti*, biochemical assay, Dengue Hemorrhagic Fever, esterase, malathion; organofosfat; resistance; temefos*

Abstrak

Penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan masalah kesehatan di Indonesia, termasuk Kabupaten Bantul DIY. Penyakit ini ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes sp*. Pencegahan dilakukan dengan memberantas vektor beserta sarangnya. Di Yogyakarta sendiri sejak tahun 1974, pemakaian insektisida kimiawi seperti insektisida organofosfat (*temefos*, *malathion*) menjadi pilihan. Tetapi pemberian *temefos* dan *malathion* dalam jangka waktu lama berpotensi menyebabkan resistensi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui status resistensi larva *Aedes aegypti* di Kabupaten Bantul berdasarkan peningkatan aktivitas enzim *esterase* dengan uji biokimia.

Penelitian dilakukan secara non eksperimental dengan pengukuran hasil secara kuantitatif. Sampel larva dikoleksi dari 3 dusun yang termasuk daerah endemik DBD. Untuk mendeteksi aktivitas enzim *esterase* dilakukan pengujian secara biokimiawi dengan mereaksikan homogenat larva dengan

substrat *á naphthyl acetat*, kemudian hasil reaksi dibaca dengan menggunakan ELISA reader dengan panjang gelombang 450 nm.

Hasil penelitian secara keseluruhan menunjukkan bahwa 84,45% larva masih rentan (SS), 13,33 % larva resisten sedang (RS), dan 2,22 % larva resisten tinggi (RR) terhadap insektisida. Hasil uji statistik *oneway ANOVA* ($\alpha = 0,877$) menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna mengenai status resistensi larva *Aedes aegypti* di antara semua dusun. Hal ini menunjukkan bahwa kecenderungan resistensi larva *Aedes aegypti* terhadap insektisida di Kabupaten Bantul DIY masih belum tinggi ($\alpha > 0,05$).

Kata kunci : *Aedes aegypti*; Demam Berdarah Dengue; *esterase*; *malathion*; *organofosfat*; resistensi; *temefos*; uji biokimia

Pendahuluan

Penyakit Demam Berdarah atau *Dengue Hemorrhagic Fever* (DHF) ialah penyakit yang disebabkan oleh virus dengue yang ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus*¹. Mengingat sampai saat sekarang belum ditemukan obat untuk membunuh virus dengue, penanggulangan penyakit ini berupa perawatan penderita dan pemberantasan vektor, baik secara kimiawi (*abate, fogging*) ataupun mekanik (peberantasan sarang nyamuk)², tetapi pemajanan zat kimiawi yang sedemikian lama akan berpotensi terjadinya suatu adaptasi, evolusi dan seleksi nyamuk vektor terhadap insektisida (*temefos, malathion*, dan lain-lain).

Resistensi insektisida diartikan kemampuan populasi serangga untuk bertahan terhadap pengaruh insektisida yang biasanya mematakannya. Tipe resistensi dibagi dalam resistensi bawaan dan resistensi yang didapat.³

Proses terjadinya penurunan status kerentanan insektisida pada tubuh serangga termasuk nyamuk secara garis besar dapat dipengaruhi tiga faktor, yaitu faktor genetik, faktor biologis, dan faktor operasional.⁴

Mekanisme resistensi menurut WHO, tidak hanya ditunjukkan dengan peningkatan aktivitas enzim *esterase*, tetapi juga oleh enzim-enzim *mixed function oxydase, hidrolase*, dan *glutathion dependent transferase*.⁵

Sejak dahulu WHO telah merekomendasikan penilaian status resistensi nyamuk dengan uji hayati, namun sekarang ini telah dikembangkan cara deteksi resistensi insektisida *organofosfat* dengan uji biokemis yang diantaranya dapat untuk deteksi peningkatan aktivitas enzim *esterase* (Est), salah satu penyebab resistensi insektisida *organofosfat*. Metode ini kini sedang giat-giatnya dikembangkan di dunia.⁶

Suatu penelitian di Amerika Latin menunjukkan bahwa terdapat suatu resistensi yang tinggi pada larva vektor terhadap *temefos*, bahkan lebih tinggi dari tingkat resistensi *fenitrothion* dan *malathion*. Di beberapa kelurahan di Kota Yogyakarta menunjukkan bahwa dengan uji hayati, nyamuk dan larva *Aedes aegypti* umumnya masih rentan terhadap *malathion* dan *temefos*, tetapi dengan uji biokimia jenis nyamuk tersebut terbukti telah menunjukkan kecenderungan resisten terhadap insektisida *organofosfat* yang ditunjukkan dengan peningkatan enzim *esterase*.⁶

Kabupaten Bantul sendiri sebagai salah satu desa endemik Demam Berdarah Dengue mempunyai kecenderungan resistensi terhadap insektisida organofosfat, tetapi hal ini belum diketahui secara pasti.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui status resistensi larva *Aedes aegypti* di daerah endemik Demam Berdarah Dengue di Kabupaten Bantul berdasarkan peningkatan aktivitas enzim *esterase* yang diujikan dengan uji biokimia.

Bahan dan Cara

Penelitian ini merupakan penelitian non eksperimental dengan pengukuran hasil secara kuantitatif terhadap aktivitas enzim *esterase* pada larva *Aedes aegypti* menggunakan ELISA reader.

Populasi sampel adalah larva *Aedes aegypti* dari tempat-tempat penampungan air di rumah-rumah warga, masing-masing sebanyak 30 sampel larva untuk tiap dusun. Lokasi penelitian terdiri dari 3 dusun yang termasuk daerah endemik Demam Berdarah Dengue di Kabupaten Bantul Daerah Istimewa Yogyakarta. Waktu penelitian pada bulan Oktober 2006.

Variabel bebas : aplikasi penggunaan insektisida oleh Puskesmas di daerah penelitian. Variabel Terikat : tingkat resistensi larva *Aedes aegypti* yang ditentukan oleh peningkatan aktivitas enzim *esterase*. Variabel Tak Terkendali : perubahan perancu yang dalam penelitian ini tidak dapat dikendalikan, meliputi variasi biologik nyamuk, genetik nyamuk, dan faktor-faktor lingkungan seperti suhu, kelembaban, musim.

Definisi Operasional : Deteksi resistensi adalah cara untuk mengetahui kemungkinan adanya resistensi dan atau kecenderungan resistensi pada larva *Aedes aegypti* terhadap larvasida.

Status kerentanan adalah kondisi larva *Aedes aegypti* yang dibagi menjadi tiga kategori : a) Rentan (SS) adalah kondisi dalam larva *Aedes aegypti* dari suatu lokasi tertentu yang masih sangat peka terhadap dosis letal larvasida. b) Resisten sedang (RS) adalah kondisi dalam larva *Aedes aegypti* dari lokasi tertentu yang sudah menunjukkan adanya kecenderungan resistensi terhadap larvasida. c) Resisten tinggi (RR) adalah kondisi dalam larva *Aedes aegypti* dari suatu lokasi tertentu yang sudah kebal atau resisten terhadap larvasida.

Frekuensi paparan adalah keseringan dari suatu lokasi untuk mendapatkan penaburan abatisasi/*fogging* yang diasumsikan dari banyaknya kasus Demam Berdarah pada daerah tersebut.

Alat penelitian adalah *porcelain plate*, mikroskop, mikropipet, *microplate wells*/sumuran mikroplate, ELISA reader.

Bahan penelitian adalah larva instar III akhir atau instar IV awal *Aedes aegypti*, larutan Phosphat Buffer Salin (PBS) 0,02 M, dengan pH = 7, larutan substrat berupa α dan β *naphtyl* acetat dalam acetone (6 gr/dl) dicampur dengan 50 ml PBS (0,02 M ; pH=7), coupling reagent atau bahan pewarna berupa 150 mg garam Fast Blue B dalam 15 ml akuades dan 35 ml *aqueous* (5%;w/v) sodium duodecyl sulphate (Sigma), larutan asam asetat 10%.

Cara kerja penelitian adalah larva dikoleksi dari tempat-tempat penampungan air rumah warga yang positif jentik *Aedes sp*, dari tiap dusun diambil 30 sampel. Larva tersebut diteliti di laboratorium untuk diidentifikasi jenisnya. Larva yang termasuk *Aedes aegypti* dipisahkan untuk kemudian diujikan kadar enzim *esterase* dengan uji biokemis.

Larva yang sesuai dengan persyaratan ditumbuk, dibuat homogenat dengan menambahkan 0,5 ml Buffer Phosphat. Kemudian 50 μ l homogenat dimasukkan ke dalam sumuran mikroplate. Tambahkan 50 μ l substrat (α *naphtyl* acetat), biarkan selama 60 detik. Campurkan 50 μ l coupling reagent dan dibiarkan selama 10 menit. Reaksi dihentikan segera dengan mencampur 50 μ l asam asetat 10% (perubahan warna dari merah ke biru). Kemudian hasil reaksi tersebut dibaca dengan ELISA reader pada panjang gelombang (λ) 450 nm.

Peningkatan aktivitas enzim *esterase* terlihat dari perubahan warna menjadi biru. Hasil akhir uji biokemis ini akan dinilai secara kuantitatif dari pembacaan *absorbance value* (AV) dengan menggunakan ELISA reader pada panjang gelombang 450 nm.

Kriteria penentuan status resistensi adalah *Absorbance value* (AV) : < 0,700 = rentan (SS), *Absorbance value* (AV) : 0,700 – 0,900 = resisten sedang (RS), *Absorbance value* (AV) : > 0,900 = resisten tinggi (RR).

Untuk melihat tingkat kemaknaan hasil uji biokemis dari masing-masing dusun lokasi penelitian dilakukan uji statistik *one way*ANOVA.

Hasil

Kabupaten Bantul Daerah Istimewa Yogyakarta terdiri atas 17 Kecamatan yang dari tiap-tiap kecamatan tersebut terdapat

sejumlah desa yang endemis Demam Berdarah Dengue. Pada penelitian ini diambil sampel dari Kecamatan Bantul dimana setiap tahunnya terdapat kejadian Demam Berdarah Dengue (Tabel 1). Dari keseluruhan desa tersebut dipilih 3 dusun dari 3 desa yang akan diambil sampel larvanya, yaitu dusun Bogoran dari Desa Trirenggo, dusun Taman dari Desa Bantul, dan dusun Guyengan dari Desa Palbapang.

Tabel 1. Status endemisitas dan kejadian Demam Berdarah Dengue tahun 2002-2006 di Kecamatan Bantul (Dinkes Bantul, 2007)

Desa	Jumlah Kasus DBD (Tahun)					Keterangan
	2002	2003	2004	2005	2006	
Palbapang	7	4	0	0	1	Sporadis
Trirenggo	4	12	5	1	6	Endemis
Bantul	4	11	7	4	5	Endemis
Ringinharjo	0	2	1	2	2	Endemis
Sabdodadi	2	4	2	1	5	Endemis

Tabel 2. Distribusi dan frekuensi *absorbance value* (AV) larva *Aedes aegypti* di dusun Bogoran, dusun Taman, dan dusun Guyengan.

Nilai AV (x 10 ⁻³) dalam nm	Dusun					
	Bogoran		Taman		Guyengan	
	n	%	n	%	n	%
201 - 300	3	10	2	6,67	4	13,33
301 - 400	5	13,67	5	16,67	2	6,67
401 - 500	5	16,67	6	20	4	13,33
501 - 600	6	20	9	30	6	20
601 - 700	4	13,33	4	13,33	12	40
701 - 800	6	20	3	10	1	3,33
801 - 900	0	0	1	3,33	0	0
901 - 1000	1	3,33	0	0	1	3,33
Jumlah	30	100	30	100	30	100

Keterangan : K (+) : 1205 x 10⁻³ nm; K (-) : 409 x 10⁻³ nm; Blank : 119 x 10⁻³ nm

Absorbance value (AV) dari dusun Bogoran berkisar antara 0,201 – 1,000 nm dengan frekuensi tertinggi pada AV = 0,501 – 0,600 nm dan 0,701 – 0,800 nm dengan frekuensi masing-masing sebanyak 20 %. Nilai AV dari dusun Taman berkisar antara 0,201 – 0,900 nm dengan frekuensi tertinggi pada AV = 0,501 – 0,600 nm yaitu sebanyak 30%. Nilai AV dusun Guyengan berkisar

antara 0,201 - 1,000 nm dengan frekuensi tertinggi pada AV 0,601 – 0,700 nm yaitu sebanyak 40 %.

Frekuensi status resistensi larva *Aedes aegypti* terhadap insektisida dari masing-masing dusun dinilai berdasarkan perbedaan aktivitas enzim *esterase* yang telah diukur secara kuantitatif dengan *ELISA reader* (tabel 3).

Tabel 3. Frekuensi status resistensi larva *Aedes aegypti* terhadap insektisida di dusun Bogoran, dusun Taman, dan dusun Guyengan.

Status Resistensi	Dusun						Total	
	Bogoran		Taman		Guyengan		n	%
	n	%	n	%	n	%		
AV < 0,700 (Rentan)	23	76,67	26	68,67	27	90	76	84,45
AV 0,700 - 0,900 (Resisten Sedang)	6	20	4	13,33	2	6,67	12	13,33
AV > 0,900 (Resisten Tinggi)	1	3,33	0	0	1	3,33	2	2,22

Keterangan :

Diperiksa pada $\lambda = 450 \text{ nm}$

AV = *Absorbance value*

Pada Tabel 3 tampak bahwa di dusun Bogoran didapatkan 76,67% sampel larva masih rentan (SS) terhadap insektisida, namun sudah ada sampel larva yang bersifat resisten sedang (RS) sebanyak 20% dan resisten tinggi (RR) 3,33 %.

Di dusun Taman didapatkan hasil bahwa sebanyak 68,67% sampel larva masih rentan (SS) terhadap insektisida, sedangkan sebanyak 13,33% sampel larva sudah resisten sedang (RS). Tetapi pada dusun Taman tidak didapatkan sampel larva dengan sifat resisten tinggi (0%).

Di dusun Guyengan sebagian besar sampel larva masih rentan insektisida yaitu sebanyak 90%, tetapi sudah didapatkan 13,33 % sampel larva yang resisten sedang (RS), dan 3,33% sampel larva resisten tinggi (RR).

Dari uji statistik *oneway Anova* secara keseluruhan didapatkan nilai

kemaknaan (α) sebesar 0,877, sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna mengenai status resistensi larva *Aedes aegypti* di antara semua dusun yang dijadikan penelitian ($F = 0,132$; nilai $\alpha > 0,05$).

Selain itu dilakukan uji statistik untuk mengetahui perbedaan hasil antara masing-masing dusun. Status resistensi antara dusun Bogoran dan dusun Taman tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan nilai kemaknaan 0,731 ($\alpha > 0,05$). Status resistensi antara dusun Bogoran dan dusun Guyengan tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan nilai kemaknaan 0,875 ($\alpha > 0,05$). Status resistensi antara dusun Taman dan dusun Guyengan tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan nilai kemaknaan 0,617 ($\alpha > 0,05$).

Diskusi

Kabupaten Bantul Propinsi Daerah Istimewa Yogyakarta merupakan daerah endemik Demam Berdarah Dengue (DBD). Kecamatan Bantul sebagai bagian dari Kabupaten Bantul merupakan salah satu contohnya. Sejak tahun 2002 sampai dengan 2006, terdapat 92 kasus DBD dengan kejadian terbanyak pada tahun 2003 yaitu 33 kasus. Jika diasumsikan bahwa setiap ada kasus selalu diikuti dengan *fogging* Puskesmas setempat, maka kemungkinan adanya resistensi nyamuk vektor DBD yaitu *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* terhadap insektisida sangat besar.

Penelitian ini menjelaskan bahwa sebagian besar (68,67% - 90%) status resistensi larva nyamuk *Aedes aegypti* terhadap insektisida golongan *organofosfat* (*malathion*, *temefos*, dll) masih rendah (yang terjadi secara merata pada tiap-tiap dusun yang diambil sebagai sampel ($\alpha > 0,05$)). Meskipun begitu, di setiap dusun sudah terdapat larva nyamuk vektor yang resisten, yaitu antara 10% - 23,33%.

Resistensi larva nyamuk terhadap insektisida jenis *organofosfat* dapat disebabkan karena penggunaan insektisida ini dalam jangka waktu lama untuk memberantas nyamuk *Aedes aegypti* untuk menanggulangi kasus-kasus DBD.⁷

Penggunaan insektisida secara luas dalam jangka lama, dosis yang sublethal, dan tidak terencana dengan baik dapat mempermudah terjadinya resistensi. Kebijakan yang selama ini diambil dalam pemberantasan nyamuk vektor DBD adalah dengan *fogging* massal terhadap suatu fokus DBD apabila terjadi kasus. Hal ini juga dilakukan oleh Dinas Kesehatan Kabupaten Bantul dimana *fogging* dilakukan apabila pada suatu daerah terdapat kasus DBD dan bertujuan untuk mencegah Kejadian Luar Biasa (KLB).

Penelitian yang sama telah dilakukan pada tahun 2001 terhadap nyamuk stadium dewasa *Aedes aegypti*, tetapi dilakukan pada 3 kecamatan di Kabupaten Bantul, yaitu Kecamatan Bantul, Sewon, dan Kasihan. Dari penelitian tersebut didapatkan 50% nyamuk masih

rentan (SS) terhadap dan 50% resisten sedang (RS) terhadap insektisida.⁸

Adanya peningkatan aktivitas enzim *esterase* seperti yang dijadikan acuan pada penelitian ini, menandakan adanya mekanisme ke arah resistensi (*selection pressure*) pada larva *Aedes aegypti* terhadap insektisida *organofosfat*. Tetapi dalam penelitian ini, belum dapat diketahui apakah larva yang resisten berasal dari proses resistensi bawaan atau didapat.

Selain itu dapat juga dengan mekanisme penurunan sensitivitas pada sistem saraf dan aktivitas enzim *asetilkolinesterase* dalam tubuh serangga.⁵ Senyawa *organofosfat* menghambat aktivitas *asetilkolinesterase* dalam plasma dan *kolinesterase* dalam sel darah merah pada bagian sinapsisnya. Enzim tersebut secara normal menghidrolisis *asetilkolin* menjadi *asetil* dan *kolin*. Pada saat terjadi penghambatan enzim, maka jumlah *asetilkolin* meningkat dan berikatan dengan reseptor *muskarinik* dan *nikotinik* pada system syaraf pusat dan perifer. Hal tersebut mengakibatkan gejala keracunan pada seluruh tubuh serangga.⁹ Apabila terjadi mekanisme penurunan sensitivitas enzim *asetilkolinesterase* maka terjadi pula penurunan sensitivitas serangga terhadap insektisida sehingga serangga menjadi resisten.

Adanya timbunan lemak juga dapat meningkatkan kecenderungan resistensi serangga terhadap insektisida karena menyebabkan penurunan penetrasi insektisida (toksikan) kearah situs aktif, sehingga sifat racun insektisida menurun.¹⁰

Selain hal-hal tersebut di atas, terdapat pula faktor-faktor lain yang mempengaruhi terjadinya resistensi larva terhadap insektisida, seperti perilaku nyamuk yang sering bermigrasi ke daerah lain dalam radius 100 meter dan jumlah insektisida yang disemprotkan. Hal ini berpengaruh pada jumlah individu nyamuk yang dapat bertahan hidup dan akibatnya berpengaruh juga terhadap evolusi resistensi nyamuk di daerah tersebut. Pengaruh migrasi ini akan terjadi jika nyamuk yang mempunyai gen resisten bertelur di tempat lain sehingga akan

terdapat generasi dari nyamuk tersebut yang membawa sifat resisten.¹⁰

Status resistensi selalu berbeda antar daerah maupun antar negara. Hal ini mungkin terjadi karena banyak sekali faktor-faktor yang mungkin berpengaruh terhadap terjadinya resistensi, yang menyangkut perilaku dan kondisi masyarakat. Sebagai contoh di Brazil, dari 10 kotamadya nyamuk dari 8 kotamadya menunjukkan resistensi, dengan tingkat kematian nyamuk mulai dari 74% (Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro) sampai 23,5% (São Gonçalo, Rio de Janeiro). Rasio resistensi nyamuk dari 3 kotamadya antara 3,59 sampai 12,41.⁷

Untuk menanggulangi masalah resistensi ini selain diperlukan pengendalian penggunaan insektisida secara terkontrol dan terarah, juga diperlukan penggantian penggunaan insektisida kimiawi seperti *organofosfat* dengan bioinsektisida lainnya. Penggunaan bioinsektisida sebagai pengendalian vektor DBD baik untuk larva maupun nyamuk dewasa secara hayati merupakan alternatif yang baik setelah penggunaan insektisida kimiawi dikurangi atau ditiadakan. Predator alami jentik seperti ikan kepala timah (*Panchax panchax*), ikan cupang (*Ctenops vittatus*), dan lainnya dapat mengurangi jumlah nyamuk yang menggigit manusia. Penggunaan *repellent* alami yang sekarang ini telah banyak dilakukan penelitian-penelitian juga dapat mempengaruhi frekuensi gigitan nyamuk ke manusia. Selain itu, program pemberantasan sarang nyamuk (PSN) yang digalakkan oleh pemerintah yaitu 3 M (Menguras, Menutup, Mengubur), harus lebih diperhatikan dan dilaksanakan dengan lebih baik lagi oleh masyarakat. Kesadaran masyarakat dalam menjaga kebersihan dan kesehatan tetap merupakan kunci dari keberhasilan program pencegahan Demam Berdarah di masyarakat.

Kesimpulan

Kecenderungan resistensi larva nyamuk *Aedes aegypti* terhadap insektisida di Kabupaten Bantul, khususnya dusun Bogoran, dusun Taman, dan dusun Guyengan, Kecamatan Bantul, belum tinggi ($\alpha > 0,05$).

Daftar Pustaka

1. Darmowandono, W. 2002. *Demam Berdarah Dengue*. Diakses 29 September 2006, dari www.pediatrik.com/ilmiah_populer/demam_berdarah.htm
2. Munif, Abdul. 1997. Pengaruh *B. thuringiensis H-14* formula tepung pada berbagai instar larva *Aedes aegypti* di laboratorium. *Cermin Dunia Kedokteran* No. 119 : 27-31.
3. Gandahusada S., Illahude, Pribadi. 1993. *Parasitologi Kedokteran*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia III : 196-201, 207-212.
4. Georghiu, G. 1979. *Management of Resistance in Artropodism*. G.P. Georghiu & T. Saito (ed) *Pest Resistance to Pesticide*. Plenum Press. New York. 41-66.
5. World Health Organization Expert Comm on VBC. 1980. *Resistance of Vectors of Disease to Pesticides*. WHO Tech.Rep. Ser 655. Geneve.
6. Mardihusodo, S.J. 1995. *Deteksi Resistensi Insektisida Organofosfat pada Nyamuk Ae. Aegypti*. Linn. Dengan metode Uji Noda Kertas Saring. Lembaga Penelitian Universitas Gajah Mada. 3-17.
7. Lima J.P., Da-Cunha M.O., Junior R.D. 2003. Resistance of *Aedes aegypti* to Organophosphat in several municipalities in the state of Rio De Janeiro and Espirito Santo, Brazil. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 68 (3) : 329-333
8. Mulyaningsih, Budi. 2003. Deteksi aktivitas esterase pada nyamuk *Aedes aegypti* di daerah endemis demam berdarah dengue di Yogyakarta. *Gama Sains V*, (1) Januari 2003, 31-37.
9. Savitri, E.N. (2007). *Karakterisasi fisik tempat perindukan Aedes sp. sebagai vektor DBD di Dusun Kalinampu, Desa Seloharjo, Pundong, Bantul*. Skripsi, Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
10. Soedarto. 1990. *Entomologi Kedokteran*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC. 59-66, 96-102.