STATUS RESISTENSI VEKTOR Aedes Aegypti TERHADAP MALATION DAN ENZIM ESTERASE NON SPESIFIK DI KECAMATAN TEMBALANG

**Irneta Bela Novita1,Martini2, Retno Hestiningsih2, Sri Yuliawati2, Nissa Kusariana2 Mochammad Hadi3**

**1Mahasiswa Magister Epidemiologi Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia**

**2Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Diponogoro, Semarang, Indonesia**

**3 Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponogoro, Semarang, Indonesia**

**belanovita52@gmail.com**

**Abstrak**

**Latar Belakang**: Penelitian status resistensi Aedes *aegypti* yang digunakan untuk fogging berdasarkan tingginya kasus Demam Berdarah *Dengue* di Kecamatan Tembalang.

**Tujuan**: untuk mengetahui status resistensi dengan uji Biossay dan *Enzim Esterase Non Spesifik* di Kecamatan Tembalang.

**Metode:** Penelitian menggunakan desain Cross Sectional yang dilakukan pada bulan Juni – September 2018 Populasi nyamuk *aedes sp.* Sampel *Aedes aegypty* betina generasi F2 hasil penangkapan menggunakan ovitrap di Kecamatan Tembalang yang terdiri dari 12 kelurahan uji biossay dengan diagnostik dari malathion 0,8%. *Aktivitas Enzim Esterase* pada tubuh nyamuk dari populasi tersebut diuji secara biokimiawi untuk peningkatan enzim dan status resistensi pada malathion.

**Hasil:** Hasil uji biosaay menunjukkan Bahwa persentase kematian nyamuk pada pengamatan 24 jam yang paling rendah ditemukan Desa Rowosari (0%), persentase kematian nyamuk yang paling tinggi di Kelurahan Sendangmulyo (46%) dan peningkatan enzim esterase non spesifik yang menghidrolisasi substrat a-naflil asetat nyamuk aedes aegypti pada kelurahan kramas Kecamatan Tembalang.

**Kesimpulan:** penelitian ini memberikan informasi tentang status resistensi malathion pada populasi Aedes aegypti di Kecamatan Tembalang dan status pada pengujian *Aktivitas Enzim Esterase.*

 **Kata kunci :** *Malathion,* Status Resistensi*, Aedes Aegpyti, Enzim esterase non spesifik*

RESISTANCE STATUS OF *Aedes Aegypty* AGAINTS MALATHION AND ENZIM ESTERASE NON SPESIFIK IN TEMBALANG CITY

**Irneta Bela Novita1,Martini2, Retno Hestiningsih2, Sri Yuliawati2, Nissa Kusariana2 Mochammad Hadi3**

**1Postgraduates Studies Epidemiology Diponegoro University, Semarang, Indonesia**

**2 Faculty Of Public Health , Diponegoro University, Semarang, Indonesia**

**3Faculty Of Matematics and Science, Diponegoro University, Semarang, Indonesia**

**belanovita52@gmail.com**

Abstract

**Background**: Research on the resistance status of Aedes aegypti to those used for fogging based on the high number of cases of Dengue Hemorrhagic Fever in Tembalang District.

**Objective**: The aim was to determine the resistance status in Tembalang District with Biossay and Esterase *Enzyme Non Spesifik*.

**Methode**: The study used a Cross Sectional design conducted in June - September 2018 Population of aedes sp. Mosquitoes. Samples of Aedes aegypty generation F2 females as a result of capture using ovitrap in Tembalang District consisted of 12 urban biossay test with diagnostic of 0.8% malathion. Esterase enzyme activity in the mosquito body of this population was tested biochemically to determine the resistance status of malathion.

Resulth: Biosaay test results showed that the lowest percentage of mosquito deaths in the 24-hour observation was found in Rowosari Village (0%), the highest percentage of mosquito deaths in Sendangmulyo Village (46%) and an increase in non-specific esterase enzymes that hydrolyzed mosquito a-naflil acetate substrate aedes aegypti in villages, namely Kramas in Tembalang city.

**Result**: this study provide information about the status of malathion resistance in the population of Aedes *aegypti* in Tembalang District and the status of Esterase Enzyme Activity testing.

**Keywords**: *Malathion, Resistance Status*, *Aedes Aegyti*, *Esrerase enzim non spesifik*

**PENDAHULUAN**

Sampai saat ini penyakit demam berdarah *dengue* (DBD) masih menjadi masalah kesehatan di masyarakat. Demam Berdarah *Dengue* disebabkan oleh virus *dengue* yang ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti*.1 *World Health Organization* (WHO) menyebutkan jumlah kasus DBD setiap tahunnya meningkat 0,4-1,3 juta pada Tahun 1996-2005, mencapai 2,2 juta Tahun 2010 dan 3,2 Juta pada Tahun 2015.2

Berdasarkan laporan yang ada sampai saat ini penyakit DBD sudah endemis pada 33 provinsi dan 436 Kabupaten atau Kota, 605 kecamatan dan 1800 Desa atau kelurahan. Provinsi Jawa Tengah merupakan salah satu wilayah endemis DBD di Indonesia dengan jumlah 14.376 kasus dengan *incidence* sebesar 42,26/100.000 dan CFR 1,48% standar indonesia CFR 0,78%.3 Kota Semarang merupakan kota endemis, berdasarkan laporan Dinas Kesehatan Kota Semarang jumlah kasus DBD yang tertinggi di Kecamatan Tembalang dengan 12 kelurahan dan memiliki 2 puskesmas yaitu Puskesmas Rowosari dan Kundumundu. Kejadian DBD di Kecamatan tembalang pada tahun 2016 dengan IR 70,68/100.000 penduduk dan tahun 2017 mengalami penurunan 36,63/100.000 penduduk.4

Pengendalian DBD terutama untuk memutus rantai penularan, yaitu dengan pengendalian vektornya.5 Salah satu program pemberantasan vektor DBD adalah dengan menggunakan insektisida. Insektisida merupakan golongan pestisida terbesar yang digunakan dalam program pemberantasan hama dan vector penyakit serta berbagai jenis serangga pengganggu yang sering didapatkan sekitar rumah.6 Hasil wawancara dengan P2P Dinas Kesehatan Kota Semarang untuk penggunaan fogging dari awal itu penggunaan Ikon dan malathion tahun 2011 menggunakan sipermetrin dengan bahan zeta sipermetrin tahun 2014-2015 kembali lagi menggunakan malathion dan tahun 2016 menggunakan sintetik *piretroid* (Cynof) dan tahun 2017 sampai sekarang menggunakan d-d trans cyphenohrin 50 g/l.

Uji Biokimia merupakan salah satu uji kerentanan serangga terhadap insektisida selain uji baku WHO menggunakan impergnated paper dan uji molekuler. Uji ini untuk mendeteksi resistensi nyamuk terhadap insektisida yang sangat esensial berdasarkan kuantifikasi enzim yang bertanggung jawab pada proses resistensi. Keunggulan uji biokimia adalah informasi status kerentanan yang diperoleh lebih cepat dan dapat menunjukkan mekanisme resistensi yang diukur secara individu.17

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Wahyudin (2009) tentang uji Kerentanan Nyamuk Vektor *Aedes aegypti* terhadap Insektisida yang digunakan Kota Cimahi Provinsi Jawa Barat didapatkan Nyamuk *Aedes aegypti* telah resisten terhadap insektisida *organofosfat* dan toleran terhadap insektisida piretroid.7 Serta resisten terhadap insektisida cypermethrin 0,2% dan 0,4%.8 Hal yang sama juga terjadi pada nyamuk *Aedes ae-gypti* di Jawa Tengah dan daerah Istimewa Yogyakarta yang juga telah resisten terhadap insektisida Malathion 0,8%, Bendiocarb 0,1%, Lamhdasihalotrin 0,05%, Permethrin 0,75%, Deltamethryin 0,05%, dan Etofenproks 0,5%.9

Kecamatan Tembalang salah satu kelurahan endemis Demam Berdarah *Dengue* mempunyai kecenderungan resistensi terhadap inseksida organofosfat. Nyamuk *Aedes agypti* sebagai vektor utama perlu dilakukan monitoring tingkat kerentanan terhadap insektisida. Sehingga tujuan penelitian ini untuk mengetahui status resistensi nyamuk *aedes aegypti* terhadap malation dan mengetahui adanya peningkatan enzim esterase non spesifik nyamuk aedes *aegypti* pada masing-masing kelurahan di kecamatan Tembalang.

**BAHAN DAN METODE**

Penelitian ini menggunakan penelitian observasional analitik. Desain penelitian *cross sectional study*. Variabel bebas adalah nyamuk Aedes agypti yang terpapar insektisida di wilayah Kecamatan Tembalang, sedangkan variabel terikat yaitu status resitensi Aedes *agypti* dan peningkatan aktivitas enzim esterase non spesifik.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan juni sampai november 2018. Populasi sample adalah larva *Aedes aegypty* dari tempat – tempat penampungan air di rumah warga, masing-masing 40 sampel dari lokasi penelitian meliputi 12 Kelurahan, di Kecamatan Tembalang, Kota Semarang meliputi Tembalang, Bulusan, Kramas, Mangunharjo, Jangli, Tandang, Sambiroto, Meteseh, Kundumundu, Sendangmulyo, Sendangguwo, dan Rowosari.

***Pengumpulan Sampel nyamuk***

Deteksi statsus resistensi pada nyamuk *Aedes aegypti* terhadap insektisida organofosfat (Malathion) dilakukan salah satunya uji keretanan biossay menurut prosedur WHO dan Uji Biokimia untuk melihat peningkatan enzim esterase. Sampel nyamuk *Aedes aegypty* sebagai uji diperoleh dengan pemasangan ovitrap. Pemasangan ovitrap dilakukan untuk menangkap telur *Aedes sp*. Telur nyamuk yang diperoleh dibiakkan di Laboratorium Entomologi Undip dan laboratorium parasitologi UGM.

***Uji Biossay***

Kit standar untuk uji kerentanan terdiri dari 4 pasang tabung uji dan sepasang tabung kontrol. Tiap tabung diisi 25 ekor nyamuk betina yang sehat dengan jumlah sampel 1.500 ekor nyamuk Pada kelompok eksperiment menggunakan paper yang mangandung Insektisida Malathion 0,8% sedangkan kelompok kontrol papernya tidak mengandung insektisida. Nyamuk dikontakkan selama 60 menit dalam tabung kontak dicatat kematiannya, lalu dipindahkan ke tabung kolektor dan ditempatkan dalam udara segar selama 24 jam (*holding*) dengan diberi makan air gula. Proporsi nyamuk mati setelah holding 24 jam dihitung. Untuk melihat Kriteria penentuan status resistensi menurut WHO 2016 persentase kematian ≥98% = rentan , 90-97% = toleran,<90% = resisten (RR).

***Uji Biokimia***

Larva yang digunakan (F2) awal digerus secara individual untuk dibuat homogenat dan dilarutkan dengan 0,5 ml larutan fosfat buffer saline (BPS), 0,02 M. Homogenat kemudian diambil 50 μl dengan mikropipet dimasukkan ke dalam mikroplate. Pada tiap sumuran kemudian ditambahkan sebanyak 50 μl bahan substrat 3 mg α-naftil acetat dilarutkan dalam 0,5 ml aceton, diambil 100 μl dimasukkan ke dalam BPS sampai volume 10 ml, diamkan selama 60 detik. Masing-masing mikroplate yang berisi 50 μl homogenat dan 50 μl substat ditambahkan lagi 50 μl coupling reagent (coupling reagen = 30 mg, fast blue ditambah 7 ml SDS 5% + 3 ml aquadest) didiamkan selama 10 menit, dari warna merah yang timbul berangsur - angsur menjadi biru. Reaksi dihentikan dengan penambahan 50 μl larutan asam acetat 10%. Aktivitas enzim eseterase non spesifik kemudian dibaca absorbence value dengan ELISA reader pada panjang gelombang (λ) 450 nm. Untuk melihat Kriteria penentuan status resistensi adalah *Absorbance value* (AV) : Nilai AV < 0,700 (Sangat rentan); AV ≥0,700-0,900 (Resisten sedang/RS); AV ≥0,900 (Resisten tinggi)

**HASIL**

Hasil survei larva di Kecamatan Tembalang yang terdiri dari 12 Kelurahan ditunjukkan pada Tabel 1 berikut ini. Tabel 1 menunjukkan bahwa House Index (HI) berkisar antara 1,5–20,9 %, Countainer Index (CI) berkisar 1,3-18,9% dan Breteau Index (BI) berkisar antara 2,5-35%. Nilai HI yang paling kecil ditemukan di Kelurahan Jangli, Mangunharjo dan Meteseh (1,5%) dan paling tinggi di Kelurahan Tembalang (20,9%). Nilai CI terendah di Kelurahan Meteseh (1,3%) dan tertinggi di Kelurahan Tembalang dan Keramas (18,9%). Nilai BI terendah di Jangli, Mangunharjo dan Meteseh (2,5%) dan tertinggi di Kelurahan Bulusan dan Tembalang

**Tabel 1. Gambaran Indeks entomologi *Aedes aegypti* di Kecamatan Tembalang**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| NAMA KELURAHAN |  HI(%) |  CI(%) | BI(%) |
| Sendangmulyo | 14,9 | 16,2 | 30 |
| Bulusan | 16,4 | 18,9 | 35 |
| Tembalang | 20,9 | 18,9 | 35 |
| Keramas | 14,9 | 14,9 | 27,5 |
| Tandang | 7,5 | 6,8 | 12,5 |
| Sendangguwo | 6,0 | 5,4 | 10 |
| Rowosari | 7,5 | 8,0 | 15 |
| Jangli | 1,5 | 1,4 | 2,5 |
| Mangunharjo | 1,5 | 1,4 | 2,5 |
| Kedungmundu | 2,9 | 2,7 | 5 |
| Sambiroto | 4,5 | 4,1 | 7,5 |
| Meteseh | 1,5 | 1,3 | 2,5 |

Uji Biossay

Hasil pengujian nyamuk *Aedes aegypti* menggunakan impregnated paper mengandung bahan aktif malation 0,8%. Tabel 2 menunjukkan. Bahwa persentase kematian nyamuk pada pengamatan 24 jam yang paling tinggi ditemukan kelurahan Sendangmulyo (49%), sedangkan persentase kematian nyamuk yang paling rendah di Sambiroto (0%) dan menunjukkan 12 kelurahan mengalami status resisten.

**Tabel. 2. Status resistensi, jumlah dan Persentase (%) nyamuk Aedes aegypti yang kematian pada uji kerentanan terhadap insektisida malathion (0,8%) pada 24 jam**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Kelurahan | Jumlah nyamuk uji\* | Malathion 0,8% | StatusResisten |
| Jumlah kematian | Persentase (%) |
| Sendangmulyo | 100 | 49 | 49 | Resisten |
| Bulusan | 100 | 41 | 41 | Resisten |
| Tembalang | 100 | 39 | 39 | Resisten |
| Keramas | 100 | 33 | 33 | Resisten |
| Tandang | 100 | 16 | 16 | Resisten |
| Sendangguwo | 100 | 61 | 61 | Resisten |
| Rowosari | 100 | 2 | 2 | Resisten |
| Jangli | 100 | 13 | 13 | Resisten |
| Mangunharjo | 100 | 32 | 32 | Resisten |
| Kedungmundu | 100 | 19 | 19 | Resisten |
| Sambiroto | 100 | 0 | 0 | Resisten |
| Meteseh | 100 | 8 | 8 | Resisten |
| Keterangan |  |  |  |  |

|  |
| --- |
| \*Empat kali ulangan, masing-masing 25 ekor nyamuk |

Uji Biokimia

Status kerentanan populasi larva *Aedes agepti* dari 12 kelurahan di wilayah Kecamatan Tembalang dapat di kategorikan seperti Tabel 3 dibawah ini

**Tabel. 3. Status Resistensi nyamuk dari kecamatan Tembalang terhadap insektisida Malathion dengan uji Biokemis melalui pembacaan Elisa Reader α = 450 nm**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Kelurahan | Rentan | Resistensi Sedang | Resistensi Tinggi |
| (AV<0,0700) | (AV≥0,700-0,900) | (AV≥0,900) |
| Jumlah | % | Jumlah | % | Jumlah | % |
| Sendangmulyo | 17 | 34 | 1 | 5 | 2 | 10 |
| Bulusan | 11 | 50 | 6 | 30 | 3 | 15 |
| Tembalang | 10 | 50 | 5 | 25 | 5 | 25 |
| Kramas | 0 | 0 | 4 | 20 | 16 | 89 |
| Tandang | 17 | 34 | 2 | 10 | 1 | 5 |
| Sendangmulyo | 17 | 34 | 1 | 5 | 2 | 10 |
| Rowosari | 20 | 100 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Jangli | 7 | 35 | 9 | 45 | 4 | 20 |
| Mangunharjo | 5 | 25 | 10 | 50 | 5 | 25 |
| Kedungmundu | 20 | 100 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Sambiroto | 20 | 100 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Meteseh | 20 | 100 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Keterangan2 kali pegulangan masing-masing 20 ekor larva |

**PEMBAHASAN**

Hasil survey larva menunjukkan bahwa di Kecamatan Tembalang 7 Kelurahan dianggap berisiko tinggi terhadap penyebaran penyakit DBD, karena nilai HI >5%. Kelurahan paling tinggi nilai HI yaitu Kecamatan Tembalang. House Index (HI) merupakan indikator yang paling banyak digunakan untuk memonitor tingkat infestasi nyamuk. Nilai HI menggambarkan persentase rumah positif untuk perkembangbiakan vektor sehingga dapat mencerminkan jumlah populasi yang berisiko. Bila suatu daerah mempunyai angka HI >5%, ini menunjukkan bahwa daerah tersebut dapat dikategorikan mempunyai tingkat risiko yang tinggi akan terjadinya penularan penyakit DBD dan bila HI<5% maka masih memungkinkan dilakukan pencegahan untuk terjadinya infeksi virus dengue. Lebih lanjut dijelaskan bahwa bila HI

>15% berarti daerah tersebut sudah ada kasus DBD. Semakin tinggi angka HI, berarti semakin tinggi kepadatan nyamuk, maka semakin tinggi pula risiko masyarakat di daerah tersebut untuk kontak dengan nyamuk dan juga untuk terinfeksi virus.10

Berdasarkan nilai BI di Kelurahan Bulusan dan Tembalang >5 berisiko sedang untuk penularan DBD. Nilai BI menunjukkan hubungan antara kontainer yang positif dengan jumlah rumah. BI merupakan indikator yang palig baik dibandingkan dengan CI dan HI karena mengkombinasi antara tempat tinggal dan kontainer. Oleh karena itu BI mempunyai nilai signifikan epidemiologis yang lebih besar.11

Hasil dari uji resistensi pada insektisida malathion yang menunjukkan kelurahan Sedendangmulyo yang memiliki kematian 49%. Pada penelitian Sunaryo, dkk 2013 menyatakan bahwa status resisten juga ditemukan pada uji kerentanan Aedes aegypti di 4 Kabupaten/Kota yang semuanya menunjukkan *Aedes aegypti* sudah resisten terhada insektisida malathion 0,8% dan permethrin 0,25%.18

Selain itu juga pada penelitian yang dilakukan Syahrizal, dkk (2016)19, pada nyamuk Aedes aegypti yang dikontakkan dengan malathion terdapat 3 pelabuahan yang resistensi, sedangkan Pada penelitian Steven Jacub Soenjon dkk,13 (2017), menunjukkan bahwa nyamuk Aedes aegypti di kelurahan Rukukan Kota Tomohon sudah resisten terhadap malathion 0,8%. Karena berkaitan dengan fungsi enzimatik di dalam tubuh vektor yang mampu mengurangi molekul insektisida menjadi molekul-molekul lain yang tidak tosik. Molekul insektisida harus berinteraksi dengan molekul target dalam tubuh vektor sehingga mampu menimbulkan keracunan terhadap sistem kehidupan vektor untuk dapat menimbulkan kematian.14

Insektisida malathion merupakan insektisida yang telah lama digunakan oleh Program Pengendalian Vektor DBD *Aedes aegypti* lebih dari 10 tahun yaitu dengan pengasapan/fogging terutama di daerah yang sedang terjadi KLB. Hasil uji biossay untuk mengetahui kerentanan *Aedes aegypti* terhadapat insektisida yang digunakan secara fogging dengan malathion 0,8% ternyata di Kecamatan Tembalang yang mempunyai 12 Kelurahan berstatus resisten. Hal tersebut terjadi salah satunya karena ini telah digunakan dalam jangka panjang sehingga vektor mengalami kerentanan.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Syahrizal, dkk (2016), pada nyamuk Aedes aegypti yang dikontakkan dengan malathion

Aktifitas enzim esterse non spesifik melalui metode kuantitatif uji biokimia terhadap nyamuk *aedes aegypti* dari 12 kelurahan di wilayah Kecamatan Tembalang menunjukkan mekanisme peningkatan yang rentan, resistensi rendah dan resistensi tinggi. Pada Kelurahan Kramas 89% mengalam resistensi tinggi sedangkan yang resistensi rendah di Kelurahan Mangunharjo50% dan yang lainnya rentan. Penelitian ini sejalan dengan Dyah Widiastuti dan Bina Ikawati15 di Pengkalongan menunjukkan persentase nyamuk uji yang mengalami peningkatan enzim eesterase paling banyak di temukan di Desa Simbangkulon dan Kedungwuni Barat masing-masing sebesar 62,5% diikuti Karangsari sebesar 50%.

Esterase merupakan salah satu enzim detosifikasi yang diketahui berperan dalam mekanisme resisten serangga terhadap insektisida dari golongan organosofat. Esterase digolongkan dalam kelompok *enzim hidrolase*, salah satu kelompok besar enzim yang mengkatalisasi reaksi hidrolisadari senyawa alifatik, ester aromatik, ester kolin dan organophoshorus. Malathion yang merupakan insektisida dari golongan organosofat memiliki dua gugus ester *carboxylic acid*, sehingga ini dapat di hidrolisis oleh enzim karboksil esterase. Apabila gugus karboksilat penyusun senyawa malathion mengalami perubahan, maka senyawa insektisida ini akan kehilangan fungsinya. Resistensi yang disebabkan karena aktivitas enzim terjadi pada enzim tersebut menghalangi senyawa insektisida untuk mencapai sisi target.16

Tetapi penelitian ini belum dapat diketahui apakah resistensi berasal dari proses bawaaan atau didapat. Untuk menanggulangi masalah resistensi selain pengendalian penggunaan inseksida secara terkontrol dan terarah, juga diperlukan penggantian penggunaan insektisida kimiawi seperti organofosfat dengan bioinseksitisida dan program pemberantasan sarang nyamuk (PSN) yang digalakkan oleh pemerintah (Menguras, Menutup, Mengubur) dengan adanya kesadaran masyarakat dalam menjaga kebersihan dan kesehatan.

**KESIMPULAN**

1. Uji kerentanan nyamuk Aedes aegypti dengan metode standar WHO (*impregnated paper*) menggunakan insektisida malathion (0,8%) menunjukkan telah resisten resisten dengan kematian 0% (resisten 100) pada kelurahan Rowosari di Kecamatan Tembalang.
2. Terjadi peningkatan enzim esterase non spesifik yang menghidrolisasi substrat a-naflil asetat nyamuk aedes aegypti pada statsus resistensi tinggi yg tertinggi dikelurahan yaitu Kramas di Kecamatan Tembalang.

**UCAPAN TERIMA KASIH**

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Dinas Kota Semarang dan Jajarannya, Puskesmas Kundumundu dan Rowosari yang telah membantu pelaksanaan Penelitian, serta rekan-rekan teknis di Instalansi Laboratorium Entomologi Undip dan Laboratorium Parasitologi UGM yang membantu pelaksanaan uji Biossay dan Uji Biokimia.

DAFTAR PUSTAKA

1. Soedarto, Demam berdarah dengue*.* Sagung Seto, Jakarta; 2012
2. WHO media center, Dengue and dengue haemorrhagic fever, World Health Organization, Juli 2016. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/> diaskes pada tanggal 14 April 2019
3. Kemenkes, RI, Pedoman pengendalian demam berdarah dengue di Indonesia. Dirjen P2P&PL, Jakarta; 2013
4. Dinas Kesehatan Kota Semarang, Profil Kesehatan Kota Semarang 2018 .www.dinkes.semarangkota.go.id.go.id. diakses pada tanggal 14 april 2019
5. Supartman, Pengendalian Terpadu Vektor Virus Demam Berdarah Dengue, *Aedes ae-gypti* (Linn.) dan *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera : Culicidae). Jurnal Fakultas Per-tanian Universitas Undayana, Denpasar; 2008
6. Kemenkes, RI,Pedoman Penggunaan Insektisida (Pestisida) dalam Pengendalian Vektor. Jakarta; 2012
7. Wahyudin, Uji Kerentanan Nyamuk Vektor *Aedes aegypti* Terhadap Insektisida yang Digunakan dalam Program Pengendalian Deman Berdarah Dengue (DBD) di Kota Cimahi Provinsi Jawa Barat (Tesis). Yogya-kart, Universitas Gadjah Mada; 2009
8. Pradani dkk, *Determination Resistance On Susceptibility Method For Aedes Aegypti and Aedes Albopictus across Thailand.* In-ternational Journal Of Medical Entomology, Vol. 42, No.5, 2011
9. Widarti dkk. The Resistence Map Of Dengue Haemorragic Fever Vektor Aedes Aegypti A Gains Organophospha Tes, Carrama Tes and Pyrethroid Insecticides In central Java and Yogyakarta Province. Buletin Peneliti Kesehatan, Vol. 39, No. 4, 2011 : 176 – 189
10. Widiarti;Boewono, T;Widyastuti U. Deteksi Antigen Virus Dengue Pada Progeni Vektor Demam Berdarah Dengan Metode Imunohistokimia. Buletin Penelitian Kesehatan. 2009;37(3):126–36.
11. Sunaryo NP, Surveilans Aedes egypti di daerah Demam Berdarah Dengue Kesehatan Masyarkat Nas.2013;8 No (16):423-429
12. Queensland D of H. Report of domestic mosquito breeding surveilance program for and sountern regions july 2011-june 2012;2013
13. Steven Jacub Soenjono, dkk. Status Resistensi Vektor Demam Berdarah Dengue Aedes aegypti terhadap Malathion di Kota Tomohon. Jurnal Vektor Penyakit, Vol 11 No.2, 2017: 43-48
14. Istiana, Heriyani F., Isnaini, Statuskerentanan larva Aedes aegypti terhadap temefos di Banjarmasin Barat. JurnalBuski Vol. 4., No. 2., Desember 2012: 53 – 8
15. Dyan Widiastuti dan Bina Ikawati. Resistensi Malathion dan Aktivitas Enzim Esterase pada nyamuk Aedes aegypti di kabupaten pakalongan. Balaba Vol.12 No.02, Desember 2016: 61-70
16. Tang, J, et.al Matabolism of organophospharorus and carbamates pesticide In: Toxicology of Organophospate & Carbamate Compounds; 2005
17. Widiarti,dkk, Uji Kerentanan Vektor Malaria Terhadap Insektisida Organosofat dan Karbamat di Provinsi Jawa Tengah dan Istimewa Yogjakarta. Buletin Penelitian. Balibangkes Depkes RI. 2005 33(2):80-88
18. Sunaryo , dkk,. Status Resistensi Vektor Demam Berdarah Dengue (Aedes aegypti) terhadap Malathion 0,8% dan Permethrin 0,25% di Provinsi Jawa Tengah. Jekol Keseehat. 2014;12(2);146-52.
19. Syahrizal, Retno Hestiningsih, Martini, Status Resistensi Nyamuk Aedes Aegypti Terhadap Malathion Di Wilayah Kerja KKP Kelas III LHOKSEUMAWE (berdasarkan Uji Impegrnated Paper dan Biokimia), 2016. Jurnal Kesehatam Masyarakat Universitas Diponegoro