

KERENTANAN LARVA *Aedes aegypti* TERHADAP TEMEFOS DI TIGA KELURAHAN ENDEMIS DEMAM BERDARAH DENGUE KOTA SUKABUMI

Hubullah Fuadzy, Dewi Nur Hodijah, Asep Jajang, Mutiara Widawati

Loka Litbang P2B2 Ciamis
Jl. Raya Pangandaran Km. 3 Ciamis - Pangandaran. Indonesia
Email : hubullah_fy@yahoo.com

SUSCEPTIBILITY OF LARVAE Aedes aegypti AGAINST TEMEPHOS AT THREE SUBDISTRICT OF ENDEMIC DENGUE FEVER IN SUKABUMI

Abstract

Resistance of Aedes aegypti larvae against temephos influenced the efforts of Dengue Fever vector control. The purpose of this study was to determine the status of susceptibility of Ae. aegypti larvae against temephos in three Dengue Fever endemic areas in Sukabumi. Design laboratory experiment with random design. approach group. Sample of Ae. aegypti larvae instar 3 and 4 had been taken from Subdistrict Baros, Sriwedari, Nangeleng. Susceptibility test, in performed according to World Health Organization (WHO). Result of this study, according to WHO recommended concentration 0.02 ppm showed that larvae in Subdistrict Baros, Sriwedari, and Nangeleng still susceptible against temephos with Ae. aegypti larvae mortality of 100%. Effective concentration 50% (LC₅₀) dan 99% (LC₉₉) in subdistrict Baros were 0.00169 and 0,01711; Sriwedari were 0.00125 and 0.00313; Nangeleng were 0.00214 and 0.00762 (ppm).respectively Higher resistance ratio occur to Subdistrict Baros with level resistance of RR₉₉ 7.34. In Conclusion, temephos still effective to be used as larvicide for vector control in those three endemic of Dengue Fever in Sukabumi.

Keywords : Susceptibility, Aedes aegypti, Temephos, Sukabumi

Abstrak

Resistensi larva *Aedes aegypti* terhadap temefos dapat mempengaruhi upaya pengendalian vektor Demam Berdarah Dengue. Tujuan penelitian adalah menentukan status kerentanan larva *Ae. aegypti* terhadap temefos di tiga Kelurahan endemis Demam Berdarah Dengue Kota Sukabumi. Jenis penelitian adalah eksperimental laboratorium dengan pendekatan rancangan acak kelompok. Sampel adalah larva *Ae. aegypti* instar 3 dan 4 dari Kelurahan Baros, Sriwedari, dan Nangeleng. Uji kerentanan dilakukan berdasarkan metode Bioassay WHO. Hasil penelitian berdasarkan kategori konsentrasi yang dianjurkan WHO sebesar 0,02 ppm menunjukkan bahwa Kelurahan Baros, Sriwedari, dan Nangeleng masih rentan terhadap temefos dengan kematian larva *Ae. aegypti* 100%. Konsentrasi efektif 50% (LC₅₀) dan 99% (LC₉₉) berturut-turut untuk Kelurahan Baros adalah 0,00169 dan 0,01711; Sriwedari adalah 0,00125 dan 0,00313; Nangeleng adalah 0,00214 dan 0,00762 (dalam ppm). Rasio resistensi tertinggi adalah Kelurahan Baros dengan tingkat resistensi RR₉₉ 7,34. Kesimpulan penelitian adalah temefos masih layak digunakan sebagai larvasida dalam pengendalian vektor di tiga Kelurahan endemis Demam Berdarah Dengue Kota Sukabumi.

Kata kunci : Kerentanan, *Aedes aegypti*, Temefos, Sukabumi

PENDAHULUAN

Resistensi nyamuk terhadap insektisida menjadi salah satu penghambat dalam pengendalian penyakit bersumber binatang. Serangga ini pertama kali diketahui telah resisten terhadap insektisida pada tahun 1908. Namun baru setelah meletusnya perang dunia II, resistensi vektor penyakit mendapat perhatian dunia. Dimulai dengan ditemukannya insektisida jenis DDT oleh Paul Muller pada tahun 1939 untuk mengendalikan berbagai serangga vektor penyakit yang menyerang para tentara. Namun, pada tahun 1946 ditemukan bahwa DDT gagal mengendalikan *Musca domestica* di Swedia dan Denmark, dan *Culex pipiens* di Italia, hingga pada tahun 1947 di Florida ditemukan bahwa *Aedes sollicitans* telah resisten terhadap DDT.¹ Dilaporkan pula bahwa sampai dengan tahun 2011 diperkirakan lebih dari 553 spesies serangga mengalami multiresistensi akibat penggunaan insektisida di sektor permukiman dan pertanian.² Di Indonesia, penggunaan insektisida dalam pengendalian vektor penyakit seperti *Aedes aegypti*, dianggap sebagai bahan yang paling murah, memiliki daya bunuh yang tinggi, dan hasil yang cepat dirasakan oleh masyarakat. Fenomena ini terlihat ketika di suatu daerah terdapat warga yang tertular penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD), masyarakat akan segera meminta pihak Dinas Kesehatan dan swadaya masyarakat untuk segera melakukan berbagai upaya pemberantasan *Ae. aegypti*. Upaya masyarakat tersebut mengakibatkan penggunaan insektisida obat antinyamuk yang intensif, tidak terkendali karena penggunaannya tanpa berdasarkan aturan pakai, pengetahuan masyarakat yang masih rendah mengenai dampak insektisida, dan pada akhirnya dapat mempercepat proses resistensi *Ae. aegypti* terhadap insektisida. Akibatnya adalah pengendalian *Ae. aegypti* sebagai vektor dominan penyakit DBD belum berhasil mencapai target yang diharapkan.

Indikator kurang berhasilnya penggunaan insektisida dalam pengendalian *Ae. aegypti* dapat dilihat dari masih munculnya kejadian penyakit DBD di masyarakat. Pada tahun 2012, jumlah kasus DBD di 31 propinsi di Indonesia telah mencapai 90.245 kasus, 816 diantaranya meninggal dunia. Hingga bulan Juli 2013,

kasus DBD telah mencapai 48.905 kasus, 376 diantaranya meninggal dunia.³ Hal ini terjadi pula di Kota Sukabumi, sebagai salah satu daerah endemis DBD tertinggi di Jawa Barat. Menurut laporan Dinas Kesehatan Kota Sukabumi, kasus DBD mengalami peningkatan dalam 3 tahun terakhir. Pada tahun 2011 jumlah kasus DBD di Kota Sukabumi 532 kasus, mengalami peningkatan pada tahun 2012 menjadi 962 kasus. Sampai dengan bulan Oktober 2013, kasus DBD sudah mencapai 485 kasus.⁴ Dinas Kesehatan telah melakukan penyuluhan untuk melakukan Pemberantasan Sarang Nyamuk (PSN plus), *fogging focuss* di wilayah-wilayah terpilih, dan pemberian temefos gratis kepada masyarakat.

Temefos merupakan salah satu larvasida dari golongan organofosfat yang banyak digunakan oleh Dinas Kesehatan atau swadaya masyarakat untuk mengendalikan populasi larva *Ae. aegypti*. Penggunaan temefos dimulai sejak pemerintah mencanangkan program abatisasi tahun 1980 untuk memutus rantai penularan DBD dengan cara membagi-bagikan bubuk Abate 1SG kepada masyarakat.² Program ini dilakukan secara terus menerus sepanjang tahun tanpa ada rotasi larvasida dengan tujuan menghindari terjadinya wabah. Menurut Georgio, resistensi serangga terhadap suatu insektisida akan terjadi apabila digunakan secara intensif selama 2 sampai 20 tahun dan terus menerus sepanjang tahun.⁵

Temefos termasuk pada larvasida golongan organofosfat dengan nama dagang Abate 1SG, nama kimia phosphorothioic acid, rumus kimia $C_{16}H_{20}O_6P_2S_3$, mempunyai berat molekul 446,46, dan kelarutannya pada suhu 26°C sebesar 30 gr/L.⁶ Konsentrasi temefos yang dianjurkan oleh Kementerian Kesehatan adalah 10 gram dalam 100 Liter atau 1 ppm, lebih tinggi dari konsentrasi yang dianjurkan oleh WHO, yaitu 0,02 ppm.

Resistensi larva *Ae. aegypti* terhadap temefos telah dibuktikan oleh Bisset dkk di Cuba dengan melakukan penelitian terhadap larva *Ae. aegypti* dari 15 lokasi sampel di Kota Havana, diperoleh hasil bahwa seluruh sampel dinyatakan telah resisten.⁷ Begitu pula penelitian Loke dkk, menemukan bahwa larva *Ae. aegypti* yang dikumpulkan dari daerah Shah Alam Selangor Malaysia telah resisten terhadap temefos (0,02 mg/L) dengan LC₅₀ sebesar 0,007040 – 0,033795

mg/L dan ratio resisten 1,2-6,7 kali.⁸ Beberapa kota di Indonesia seperti Palembang, Surabaya, Kendari, Bali, dan Bandung telah dinyatakan resisten terhadap temefos. Dan beberapa Kabupaten/Kota yang masih rentan adalah Kalimantan Selatan, Jawa Tengah, dan DKI Jakarta.^{9,10}

Mengingat penggunaan temefos telah digunakan di Kota Sukabumi lebih dari 20 tahun sebagai upaya pencegahan dan memutus mata rantai penularan ketika terjadi kejadian luar biasa atau wabah penyakit infeksi virus dengue,³ maka perlu dilakukan penentuan status kerentanan larva *Ae. aegypti* terhadap temefos di tiga Kelurahan endemis DBD.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium, percobaan dilakukan berdasarkan metode rancangan acak kelompok, yaitu satu rancangan variabel bebas dengan beberapa perlakuan yang disusun secara acak.¹¹ Pada penelitian ini menggunakan perlakuan 6 konsentrasi.

Populasi pada penelitian ini adalah seluruh larva *Ae. aegypti* instar 3 dan 4 di Kelurahan Baros, Kelurahan Nangeleng, dan Kelurahan Sriwedari Kota Sukabumi. Pada penelitian ini menggunakan dua komponen sampel larva *Ae. aegypti* yaitu larva lapangan dan larva standar. Sampel larva lapangan yang digunakan berasal dari larva yang diperoleh dari wilayah Kel. Baros, Kel. Nangeleng, dan Kel. Sriwedari. Larva ini dididuk pada saat mengikuti pengumpulan data untuk penelitian Satker tahun 2013 Loka Litbang P2B2 Ciamis di Sukabumi. Larva lapangan tersebut dipelihara di Insektarium Loka Litbang P2B2 Ciamis hingga keturunan pertama (F1). Sedangkan larva standar diperoleh dari hasil rearing Insektarium Loka Litbang P2B2 Ciamis. Larva standar yang diuji adalah larva *Ae. aegypti* instar 3 dan 4 pada keturunan 22 (F22).

Jumlah sampel yang digunakan diperoleh berdasarkan besaran perlakuan dan pengulangan yang ditentukan dengan rumus Federrer¹² yaitu $(t-1)(r-1) \geq 15$, dimana t : perlakuan dan r : ulangan.

Dalam penelitian ini digunakan perlakuan 6 konsentrasi dan 1 perlakuan sebagai kontrol, maka diperoleh jumlah ulangan adalah 4,

sehingga seluruh perlakuan dalam penelitian ini adalah 28 perlakuan. Dalam satu perlakuan dipaparkan 25 ekor larva *Ae. aegypti* sebagai sampel. Jumlah seluruh larva *Ae. aegypti* instar 3 dan 4 yang digunakan pada penelitian ini adalah 700 ekor untuk tiap Kelurahan dan larva standar. Prosedur penelitian dilakukan beberapa tahapan, yaitu :

A. Pemeliharaan Larva *Ae. aegypti*

Larva *Ae. aegypti* yang diperoleh dari lapangan, dipelihara di Insektarium Loka Litbang P2B2 Ciamis selama 1 malam. Sedangkan larva standar diperoleh dengan menetas telur F22 hasil dari rearing Insektarium. Pemeliharaan larva mengikuti prosedur rearing yang dilakukan oleh Uthai.¹³ Larva dimasukkan ke dalam kontainer yang berisi air jernih 1500 mL sebanyak 1000 ekor. Kemudian dimasukkan pakan larva berupa dog food sebanyak 0,5 mg. Larva dipelihara pada suhu ruangan $25 \pm 1^\circ\text{C}$ dan kelembaban $70 \pm 2\%$ RH. Larva yang digunakan untuk uji Kerentanan adalah larva instar III dan IV atau yang telah berusia 4 hari.

B. Uji Kerentanan

Uji Kerentanan untuk menentukan kerentanan larva *Ae. aegypti* dilakukan dengan modifikasi metode WHO/VBC/81.807,¹⁴ dan Elliot.¹⁵ Penetapan berbagai konsentrasi untuk uji Kerentanan sebanyak 6 konsentrasi dan 1 kontrol, yaitu 0,000625; 0,00125; 0,0025; 0,005; 0,01; dan 0,02 ppm; serta tanpa konsentrasi sebagai kontrol. Pengujian terhadap larva standar dan lapangan dilakukan dengan metode yang sama. Sebelum dilakukan uji, larva *Ae. aegypti* tidak diberikan pakan selama 1 hari. Insektisida yang digunakan adalah Abate 1SG (BASF), dan konsentrasi pada tiap perlakuan yang diamati telah dikonversi.

Tahap pertama uji kerentanan adalah larva instar 3 akhir dan instar 4 awal *Ae. aegypti* langsung dari lapangan dan standar sebanyak 25 ekor dimasukkan ke dalam masing-masing wadah yang berisi air jernih dengan volume 100 mL, biarkan 30 menit untuk adaptasi larva. Temefos dengan konsentrasi tertentu dimasukkan kedalam 25 wadah yang berisi air jernih hingga volume 200 mL pada tiap wadah perlakuan. Untuk kontrol, ke dalam 3 wadah ditambahkan etanol 1cc. Kemudian dimasukkan 25 ekor larva ke dalam 28 wadah. Setelah larva kontak dengan temefos selama 1

jam, larva dipindahkan ke gelas berisi 50 mL air jernih untuk pencucian selama 1 menit. Larva dipindahkan lagi ke dalam wadah berisi 500 mL air jernih untuk dipelihara. Dilakukan pengamatan kondisi larva setelah 24 jam serta pencatatan suhu dan kelembaban. Larva yang mati adalah larva yang sudah tenggelam dan tidak bergerak lagi.

C. Analisis Data

Analisis data tahap pertama adalah melakukan faktor koreksi hasil uji menggunakan pendekatan Abbot,¹⁵ yaitu jumlah kematian larva dapat dianalisis lebih lanjut apabila kematian pada kontrol < 5%. Apabila kematian larva pada kontrol antara 5% sampai dengan 20%, maka dilakukan koreksi data dengan menggunakan rumus Abbot, yaitu :

$$= (\text{kematian pada perlakuan (\%)} - \text{kematian pada kontrol (\%)} / (100 - \text{kematian kontrol (\%)} \times 100$$

Apabila kematian larva pada kontrol > 20% maka uji harus diulang.

Setelah itu, menentukan LC₅₀ dan LC₉₉ dengan menggunakan aplikasi open source LeOra software POLO PC. Setelah memperoleh hasil perhitungan LC, selanjutnya dilakukan perhitungan ratio resistance (RR)¹⁶ dengan menggunakan persamaan berikut :

$$RR = (\text{LC larva yang diamati}) / (\text{LC larva yang menjadi pembanding})$$

Untuk menentukan tingkat resistensi, katagori Mazzari dan Georghio menjadi acuan dasar, yaitu larva mulai resisten apabila RR > 1 dan kelipatannya, sedangkan RR < 1 dinyatakan masih rentan. Adapun katagori resisten meliputi resistensi tinggi bila RR > 10 dan kelipatannya, resistensi moderat bila RR antara 5 dan 10, resistensi rendah bila RR < 5.¹⁷

HASIL

Kematian larva *Ae. aegypti* pada 0 ppm (kontrol) di tiap galur adalah 0%. Berdasarkan katagori Abbot, data hasil pengamatan dapat dilakukan analisis lebih lanjut karena kematian larva pada kontrol kurang dari 5%. Gambar 1 menunjukkan bahwa konsentrasi temefos semakin besar maka jumlah kematian larva *Ae. aegypti* pun akan semakin tinggi.

Berdasarkan katagori konsentrasi yang diajarkan oleh WHO sebesar 0,02 ppm

menunjukkan Kelurahan Baros, Sriwedari, dan Nangeleng masih rentan terhadap Temefos dengan kematian larva *Ae. aegypti* 100% (Tabel 1). Berdasarkan analisis ANOVA *one way*, diperoleh informasi bahwa di ketiga Kelurahan tersebut pemberian temefos masih berpengaruh terhadap kematian larva *Ae. aegypti* ($p < 0,05$).

Merujuk pada Tabel 2, apabila konsentrasi efektif untuk membunuh larva *Ae. aegypti* sebesar 50% ini dibandingkan antar Kelurahan maka konsentrasi temefos paling rendah adalah Kelurahan Sriwedari (0,00125 ppm) dan konsentrasi paling tinggi adalah Nangeleng (0,00214 ppm). Konsentrasi tersebut, relatif sama dengan konsentrasi efektif untuk membunuh 99%, Kelurahan dengan konsentrasi paling rendah tetap sama yaitu Sriwedari (0,00313 ppm), sedangkan perbedaan terletak pada konsentrasi paling tinggi yaitu Baros (0,01711 ppm).

Hasil analisis rasio resistensi yang diperoleh dengan membandingkan tiap LC₅₀ dan LC₉₉ larva uji dengan larva standar, menunjukkan bahwa pada umumnya larva *Ae. aegypti* dari Kelurahan Baros, Sriwedari, dan Nangeleng mulai mengalami proses resistensi terhadap temefos (RR > 1). Tingkat Rasio Resistensi (RR₉₉) yang paling besar terjadi pada Kelurahan Baros yaitu mencapai 7,34 kali dari larva *Ae. aegypti* strain rentan (standar). Hal ini mengindikasikan bahwa Kelurahan Baros telah mencapai tingkat resistensi moderat (RR 5-10). Sedangkan RR₉₉ larva *Ae. aegypti* Kelurahan Sriwedari dan Nangeleng termasuk pada resistensi katagori rendah (RR < 5).

PEMBAHASAN

Penaburan temefos ini mempunyai efek residu 3 bulan dengan pola pemakaian air secara normal. Menurut US EPA, temefos mempunyai tingkat toksisitas moderat akut apabila paparan melalui jalur dermal atau oral, dan toksisitas rendah apabila paparan melalui jalur inhalasi.¹⁸

Pada penelitian ini diperoleh informasi bahwa pemanfaatan temefos sebagai salah satu senyawa larvasida masih dapat digunakan untuk pengendalian larva *Ae. aegypti* di Kelurahan Baros, Sriwedari, dan Nangeleng ($p < 0,05$). Hasil penelitian ini tidak diduga sebelumnya, mengingat temefos telah digunakan lebih dari

20 tahun di Kota Sukabumi. Namun, status kerentanan di Kota Sukabumi tersebut setara juga dengan beberapa daerah di Indonesia, seperti di Banjarmasin Utara¹⁹ dan Banjarbaru Kalimantan Selatan.²⁰ Namun demikian, untuk Kelurahan Baros perlu kewaspadaan dan pengawasan dalam penggunaan temefos oleh aparat pemerintahan setempat. Kemungkinan yang dapat menjelaskan belum terjadi resisten di tiga wilayah pengamatan ini adalah masyarakat Kota Sukabumi melakukan berbagai macam cara dan metoda dalam pengendalian DBD. Sebagian masyarakat melaksanakan manajemen lingkungan berupa pemberantasan sarang nyamuk (PSN) melalui program 3M plus dan pengelolaan sanitasi lingkungan, walaupun terdapat pula sebagian masyarakat di wilayah tertentu yang menggunakan bahan kimia sintetis temefos. Hal ini sesuai dengan penelitian Roy dkk di Kota Sukabumi yang menjelaskan bahwa sebanyak 35,75% penduduk melakukan pengendalian vektor dengan cara PSN, dan 16,89% penduduk melakukan sanitasi lingkungan. Kemudian, masih ditemukan pula penduduk yang menggunakan insektisida sintetis untuk membasmi nyamuk. Pada rumah penduduk yang rutin menggunakan larvasida sintetis, masih ditemukan larva *Ae. aegypti* sebesar 17,6%.²¹

Konsep resistensi menyatakan bahwa penggunaan insektisida sintetis yang dilakukan secara terus menerus dalam waktu lama, tidak akan membunuh 100% serangga yang terpapar insektisida, dan akan selalu ada serangga yang tetap hidup. Pada awalnya jumlahnya amat sedikit, tetapi dalam periode tertentu akan mengalami peningkatan populasi, karena terjadi proses memperbanyak diri sekaligus mewariskan kemampuan untuk resisten terhadap insektisida kepada keturunan selanjutnya.¹ Khusus di Kelurahan Baros, penggunaan temefos perlu diawasi secara ketat karena nilai LC₉₉ (0,017 ppm) mulai mendekati status resisten (0,02 ppm). Hal ini dapat menjadi bahan pertimbangan pemerintah dan penduduk Kelurahan Baros, apabila akan tetap menggunakan temefos untuk mengendalikan larva *Ae. aegypti*, mengingat Kelurahan Baros mulai mendekati status resisten. Tingkat resistensi Kelurahan Baros telah mencapai 7,34 kali dari larva *Ae. aegypti* rentan. Berdasarkan kriteria Brown,²² larva

pada tahap ini belum dinyatakan berstatus resisten (RR>10). Namun, berdasarkan kriteria Mazzari dan Georghio,¹⁷ ratio resistensi pada tahap ini telah masuk pada status resistensi tingkat moderat. Sebagai pembandingan, kerentanan larva *Ae. aegypti* di beberapa distrik di Bangkok Thailand telah mencapai tingkat resistensi moderat seperti Thung Khru (RR₉₅ 6,1), sedangkan resistensi rendah seperti Huai Khwang (RR₉₅ 3,9), Sathon (RR₉₅ 3,8), Khlong Toei dan Thon Buri (RR₉₅ 4,0).²³

Salah satu upaya yang bisa dilakukan untuk mencegah terjadinya resistensi *Ae. aegypti* terhadap temefos di Kelurahan Baros adalah dengan menerapkan manajemen rotasi insektisida. Walaupun banyak peneliti yang menilai bahwa manajemen ini hanya sebatas memperlambat terjadinya resistensi, bukan mencegah terjadinya resistensi.¹ Akan tetapi sebelum ditemukannya rekayasa genetik nyamuk yang tepat sasaran, manajemen rotasi insektisida merupakan langkah efektif yang bisa dilakukan. Hal ini dijelaskan lebih lanjut oleh Lagunes yang menyatakan bahwa pada spesies *Culex quinquefasciatus* yang memiliki tiga gen resisten terhadap insektisida temefos, propoksur, dan permetrin, tidak berkembang menjadi nyamuk resisten bila diterapkan manajemen rotasi insektisida secara tepat.²⁴

KESIMPULAN

Berdasarkan pembahasan diatas, dapat disimpulkan bahwa pemanfaatan temefos sebagai larvasida masih relevan digunakan untuk pengendalian larva *Ae. aegypti* di Kelurahan Baros, Sriwedari, dan Nangeleng Kota Sukabumi. Namun, kerentanan larva *Ae. aegypti* di Kelurahan Baros perlu dilakukan manajemen rotasi insektisida oleh pemerintah daerah setempat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami sampaikan kepada tim peneliti Loka Litbang P2B2 Ciamis tahun 2013 yang telah memberikan kesempatan bagi kami untuk melakukan eksperimen terhadap

bahan biologi tersimpan dari Kota Sukabumi.

DAFTAR RUJUKAN

1. Ahmad I. Adaptasi serangga dan dampaknya terhadap kehidupan manusia. Pidato ilmiah guru besar ITB Bandung. 2011.
2. Kemenkes RI. Modul Pengendalian Demam Berdarah Dengue. Dirjen Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan. Jakarta. 2011.
3. Kemenkes RI. Tabulasi Kasus DBD di Indonesia. Dirjen Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan. Jakarta. 2013.
4. Dinas Kesehatan Kota Sukabumi. Data DBD Lengkap Sukabumi. Dinkes Kota Sukabumi. 2013.
5. Georghio GP, Melon R. dalam Georghio G.P., and Sito, T., (editors) Pest Resistance to Pesticides. Plenum Press. New York. 1998. p. 769.
6. WHO. WHO Specifications and evaluations For Public Health Pesticides, Temephos. Temephos evaluation only June 2011.
7. Bisset JA, Rodriguez MM, Ricardo Y, Ranson H. Temefos resistance and esterase activity in the mosquito *Aedes aegypti* in Havana, Cuba increase dramatically between 2006 and 2008. *Medical and veterinary Entomology*. 2011; 25, 233-39. doi.1111/j.1365-2915.2011.00959.x.
8. Loke SR, Andy-Tan W, Benjamin S, Lee HL, Sofian-Azirun M. Susceptibility of field-collected *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) to *Bacillus thuringiensis israelensis* and temephos. *Tropical Biomedicine*. 2010; 27(3), 493–503.
9. Raharjo B. Uji Kerentanan (Susceptibility Test) Nyamuk *Aedes aegypti* (Linnaeus) Dari Surabaya, Palembang, dan Beberapa Wilayah di Bandung Terhadap Larvasida Temephos (Abate 1 SG). Bandung: ITB Bandung. 2006.
10. Kusriastuti R. Global Strategy For Dengue Prevention and Control 2012 – 2020. WHO-SEARO. India. 2012.
11. Creswell JW. Research Design, Pendekatan Kualitatif, kuantitatif, dan Mixed. Edisi ketiga Cetak pertama. Pustaka Pelajar. Yogyakarta. 2010.
12. Gomez KA, Gomez AA. Statistical Procedure For Agriculture Research. 2nd edition. A Wiley-Inter Science. Publ Jhon Wiley&sons. New York-Singapura. 1984.
13. Uthai UL, Rattanapreechachai P, Chohanadisai L. Bioassay and Effective Concentration of Temephos Against *Aedes aegypti* Larvae and the Adverse Effect Upon Indigenous Predators :*Toxorhynchites splendens* and *Micronecta* sp. *Asia Journal of Public Health*, 2011;2(2);67–77.
14. WHO. Instructions For Determining The Susceptibility Or Resistance Of Adult Mosquitos To Organochlorine, Organophosphate, and Carbamate Insecticides - Diagnostic Test. 1981; WHO/VBC/81.806.
15. WHO. Manual On Prsctical Entomology In Malaria, Part II Methods and Techniques. World Health Organization. Geneva. 1975.
16. Shetty V, Sanil D, Shetty NJ. Insecticide susceptibility status in three medically important species of mosquitoes, *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*, form Bruhat Bengaluru Mahanagara Palike, Karnataka, India. *Pest Manag Sci*. 2013; 69: 257-67.
17. Mazzari MB, Geroghio GP. Characterization or Resistance to Organophosphate, Carbamate, and Pyrethroid Insecticides in Field Population of *Aedes aegypti* in Venezuela. *J. Am. Mosq. Cont. Assoc*. 1995; 11:69-73.
18. [USA-EPA] United State of America – Environment Protection Agency. Temephos: Revised HED Chapter for the Registration Eligibility Decision (RED) Document. 2009.
19. Gafur A, Mahrina, Hardiansyah. Kerentanan Larva *Aedes aegypti* dari Banjarmasin Utara Terhadap Temefos. *Bioscientiae*, 2006; 3(2), 73–82.
20. Ridha MR, Nisa K. Larva *Aedes aegypti* Sudah Toleran Terhadap Temefos Di Kota Banjarbaru Kalimantan Selatan. *Jurnal Vektora*. 2011: III(2), 93–111.
21. Prasetyowati H, Rohmansyah, Nusa R. Peta upaya pencegahan DBD Kota Sukabumi tahun 2012. *Jurnal Ekologi Kesehatan*. 2012; 11(4), 333-41.
22. Brown AWA. Insecticide resistance in mosquitoes: a pragmatic review, *J Am. Mosq. Contr. Assoc*. 1989; 2(2): 123-40.
23. Komalamisra N, Srisawat R, Phanbhuwong T, Oatwaree S. Insecticide susceptibility of the dengue vector, *Aedes aegypti* (L.) in Metropolitan Bangkok. *Southeast Asian J Trop. Med. Public Health*. 2011; 42(4), 814-23.
24. Lagunes AT. Impact of the use of mixture and sequences of tissues in the evolution of resistance in *Culex quinquefasciatus*. PhD Dissertation. University of California Riverside. 1980.