

PENGARUH RADIASI SINAR GAMMA Co-60 TERHADAP STERILITAS DAN PERKEMBANGAN EMBRIO CULEX QUINQUEFASCIATUS

EFFECT OF GAMMA RAY Co-60 RADIATION TO THE STERILITY AND DEVELOPMENT EMBRYOS OF CULEX QUINQUEFASCIATUS

Riyani Setyaningsih*, Widiarti, Bambang Heriyanto

Balai Besar Litbang Vektor dan Reservoir Penyakit, Badan Litbangkes, Kemenkes RI, Jl. Hasanudin No. 123 Salatiga Jawa Tengah, Indonesia

*Korespondensi Penulis: ryanisetia@gmail.com

Submitted: 07-06-2014, Revised : 06-02-2015, Accepted: 03-03-2015

Abstrak

Teknik Serangga Mandul merupakan teknik pengendalian vektor yang ramah lingkungan dan spesifik target. Aplikasi Teknik Serangga Mandul dalam pengendalian Cx quinquefasciatus belum pernah dilakukan di Indonesia, sehingga perlu uji pendahuluan sebelum aplikasi ke alam. Penelitian bertujuan menentukan dosis optimal iradiasi sinar gamma Co-60 yang dapat mensterilkan dan berpengaruh terhadap perkembangan embrio Culex quinquefasciatus. Pupa jantan diradiasi dengan sinar gamma pada dosis 50 Gy, 50 Gy, 60 Gy, dan 70 Gy. Radiasi dilakukan di BATAN Jakarta. Nyamuk jantan yang muncul dari pupa kemudian dikawinkan dengan betina normal. Hasil perkawinan diamati sterilitas telur dan perkembangan embrio. Hasil penelitian menunjukkan sinar gamma Co-60 dosis 40 Gy, 50 Gy, 60 Gy, dan 70 Gy menyebabkan sterilitas telur yang dihasilkan 20,919%, 48,995%, 89,48%, dan 100%. Perlakuan dosis 40 Gy menghasilkan telur steril dengan 29,39% mengandung embrio dan 70,66% tidak mengandung embrio. Perlakuan dosis 50 Gy menghasilkan telur steril dengan 16,71% mengandung embrio dan 86,56% tidak mengandung embrio. Perlakuan dosis 60 Gy 9,35% telur steril mengandung embrio dan 90,64% tidak mengandung embrio. Perlakuan dosis 70 Gy 100% telur yang dihasilkan steril dan tidak mengandung embrio. Dosis optimal yang dapat mensterilkan dan berpengaruh terhadap perkembangan embrio Culex quinquefasciatus adalah dosis 70 Gy.

Kata kunci : Teknik Serangga Mandul, Culex quinquefasciatus dan sterilitas

Abstract

Sterile Insect Technique is a vector control techniques that are environmentally safe and specific targets. SIT application in the control of Cx quinquefasciatus has never been done in Indonesia, so we need a preliminary test before application to the nature. The aim of the study are to determine the optimal dose of gamma Co-60 radiation to sterilize and effect develop of embrio Culex quinquefasciatus. Male pupae radiated with gamma rays at a dose of 50 Gy, 50 Gy, 60 Gy, and 70 Gy. Radiation conducted in BATAN Jakarta. Male mosquitoes emerging from the pupa then matting with a normal female. Eggs producing from matting obserbed for the sterility and embryonic development. The result of the study showed that gamma Co-60 ray dose of 40 Gy, 50 Gy, 60 Gy, and 70 Gy caused sterility of eggs produced 20.919%, 48.995%, 89.48%, and 100%. At a dose of 40 Gy produced sterile eggs containing embryos with 29.39% and 70.66% does not contain an embryo. At a dose of 50 Gy produced sterile eggs containing embryos with 16.71% and 86.56% does not contain an embryo. At a dose of 60 Gy 9.35% sterile eggs containing embryos and 90.64% does not contain an embryo. Dose of 70 Gy 100% of eggs produced sterile and does not contain an embryo. Thus, the optimal dose to sterilize and effect on embryo development Culex quinquefasciatus is a dose of 70 Gy.

Keywords : Sterile Insect Technique, Culex quinquefasciatus, Sterility

Pendahuluan

Teknik Serangga Mandul (TSM) merupakan pengendalian vektor secara genetik yang mulai dikembangkan karena bersifat ramah lingkungan dan spesifik target. Prinsip TSM adalah pengendalian serangga dengan melepaskan serangga steril ke alam dengan tujuan supaya terjadi perkawinan antara serangga steril dengan serangga normal di alam. Pelepasan secara bertahap dapat menurunkan populasi serangga di alam.¹⁻⁴ Proses sterilisasi serangga dapat dilakukan dengan menggunakan sinar gamma dan zat kimia (*chemosterilan*). Penggunaan *chemosterilan* dapat menyebabkan serangga tidak dapat bertelur, telur-telur yang dihasilkan tidak menetas, jentik tidak dapat menjadi pupa atau perkembangan pupa tidak sempurna.⁵ Proses sterilisasi serangga dengan menggunakan *chemosterilan* sekarang tidak dianjurkan karena bersifat mencemari lingkungan dan bersifat karsinogenik. Proses sterilisasi yang lebih aman dapat menggunakan sinar gamma Co-60.⁶ Pengendalian dengan TSM dengan radiasi untuk mensterilkan serangga jantan sebelum dilepaskan sampai sekarang dirasa aman karena tidak menimbulkan efek resistensi serangga dan bersifat spesifik target.⁴

Teknik Serangga Mandul telah dikembangkan pada pengendalian lalat buah dan nyamuk. Pengendalian *Cochliomyia hominivorax Coquerel* di Mexico dan Libya, serta mengendalikan lalat buah *Ceratitis capitata Wiedemann* dan berbagai jenis lalat buah di Amerika Serikat, Afrika Selatan, Eropa dan Asia. Keberhasilan TSM juga dilaporkan pada pengendalian *Pectinophora gossypiella Saunders* di Amerika Serikat serta pengendalian *Cydia pomonella* L di Kanada. Pada pengendalian nyamuk Aplikasi TSM telah berhasil dilakukan pada *Anopheles gambiae* di Brazil, *Aedes aegypti* di Amerika dan Kuba. Pengendalian nyamuk *Ae. aegypti* dengan TSM sedang dikembangkan di Indonesia.⁷⁻¹³

Aplikasi TSM untuk pengendalian *Cx. quinquefasciatus* belum pernah dilakukan di Indonesia, sehingga diperlukan uji pendahuluan untuk menunjang keberhasilan aplikasi TSM di alam. Beberapa uji pendahuluan yang diperlukan sebelum aplikasi di lapangan adalah penentuan dosis radiasi optimal terhadap sterilitas telur *Cx. quinquefasciatus* dan perkembangan embrio telur yang dihasilkan dari perkawinan jantan steril dengan betina normal. Berdasarkan latar belakang tersebut tujuan penelitian adalah

mendapatkan dosis optimal radiasi sinar gamma Co-60 terhadap sterilitas dan perkembangan embrio *Cx. quinquefasciatus*.

Metode

Penelitian dilakukan di laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit (B2P2VRP) Salatiga pada tahun 2011. Radiasi pupa *Cx. quinquefasciatus* dengan sinar gamma Co-60 dilakukan di BATAN Jakarta. Penelitian ini merupakan studi experimental.

Kolonisasi nyamuk *Cx. quinquefasciatus* di lakukan di laboratorium B2P2VRP Salatiga. Proses kolonisasi diawali dengan penangkapan nyamuk *Cx. quinquefasciatus* di lapangan. Nyamuk hasil penangkapan dimasukkan di dalam kurungan nyamuk berukuran 40x40x80 cm. Di dalam kurungan nyamuk dilengkapi dengan larutan gula 10% sebagai sumber energi dan darah marmot untuk proses pemasakan telur. Selain itu diletakkan tembikar dari tanah liat yang diisi air sebagai tempat peletakan telur. Untuk menjaga kelembaban kurungan bagian luar ditutup dengan handuk basah.

Pengamatan produksi telur dilakukan setelah dua sampai tiga hari pemberian darah marmot. Telur yang dihasilkan diambil dan ditetaskan di dalam mangkuk enamel yang telah diisi dengan air. Telur yang telah menetas menjadi jentik instar satu setelah berumur satu sampai dua hari dipindah ke dalam nampan pemeliharaan berukuran 27x36x5 cm dengan kepadatan 400-600 ekor/nampan. Selama proses pemeliharaan jentik diberikan nutrisi berupa *dog food*. Banyaknya *dog food* yang diberikan disesuaikan dengan besar instar jentik yang dipelihara. Pemeliharaan jentik dilakukan sampai semua jentik menjadi pupa. Pupa yang dihasilkan setiap hari diambil dan dimasukkan di dalam kurungan nyamuk. Nyamuk yang telah muncul di dalam kurungan kemudian diberi larutan gula 10% dan darah marmot agar dapat bertelur. Telur yang dihasilkan kemudian ditetaskan dan dipelihara sampai menjadi dewasa. Proses kolonisasi nyamuk terus dilakukan sampai terbentuk kolonisasi *Cx. quinquefasciatus* yang stabil dan siap dilakukan uji.

Pupa hasil kolonisasi di laboratorium dipisahkan antara pupa jantan dan pupa betina. Proses pemisahan pupa dilakukan dengan cara pupa diambil dengan menggunakan pipet gelas kemudian diamati jenis kelaminnya di bawah mikroskop compound. Identifikasi pupa jantan dan betina didasarkan pada perbandingan panjang

dan lebar dari *genital pouch*. Pada pupa jantan panjang dari *genital pouch* cenderung 2 kali lebih panjang dibandingkan dengan lebarnya. Sedangkan pada pupa betina ukuran panjang dan lebar dari *genital pouch* kurang lebih sama.¹⁴ Pupa jantan yang telah teridentifikasi kemudian dimasukkan ke dalam botol dan disimpan di dalam *cool box* dan di bawa ke BATAN Jakarta untuk diradiasi. Pupa betina dimasukkan di dalam kurungan nyamuk berukuran 40x40x40 cm dan disimpan di laboratorium B2P2VRP Salatiga sebelum dilakukan uji.

Pupa jantan sebelum dilakukan radiasi dengan sinar gamma Co-60 dimasukkan di dalam botol gelas kecil dengan dengan kepadatan 40-50 ekor/botol. Pupa yang diradiasi adalah pupa berumur >15 jam. 15-17 pupa jantan diradiasi menggunakan sinar Gamma Co-60 pada berbagai dosis. Dosis yang digunakan dalam radiasi pupa *Cx. quinquefasciatus* adalah 40 Gy, 50 Gy, 60 Gy, dan 70 Gy. Sebagai kontrol adalah pupa jantan *Cx. quinquefasciatus* yang tidak diradiasi yang telah disiapkan di laboratorium B2P2VRP Salatiga dengan umur yang sama dengan pupa yang diradiasi. Dasar penentuan variasi dosis radiasi sinar gamma adalah berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh BATAN Jakarta pada nyamuk *Ae. aegypti*.⁷

Pupa jantan yang telah diradiasi di masukkan ke dalam *cool box* dan dibawa ke laboratorium B2P2VRP Salatiga. Pupa yang telah diradiasi dimasukkan di dalam kurungan nyamuk dan ditunggu sampai menjadi nyamuk sebelum dilakukan perkawinan dengan betina normal (tidak diradiasi). *Culex quinquefasciatus* jantan yang telah diradiasi dengan sinar gamma Co-60 pada masing-masing dosis 40 Gy, 50 Gy, 60 Gy, dan 70 Gy dikawinkan dengan betina normal dengan perbandingan antara *Cx. quinquefasciatus* jantan steril dengan betina normal adalah 1:1 pada masing-masing dosis radiasi. Perkawinan nyamuk jantan steril dengan betina normal dilakukan dengan cara 25 ekor *Cx. quinquefasciatus* jantan steril dan 25 ekor *Cx. quinquefasciatus* betina normal dimasukkan ke dalam kurungan nyamuk berukuran 40x40x40 cm dan dibiarkan melakukan perkawinan secara alami. Pada masing-masing dosis radiasi dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Sebagai sumber nutrisi dan pemasakan telur diberikan larutan gula 10% dan darah marmot. Setelah dua sampai tiga hari diamati produksi telur *Cx. quinquefasciatus* yang dihasilkan dari perkawinan antara jantan steril dan betina normal

pada masing-masing dosis.

Telur hasil perkawinan antara jantan steril dengan betina normal pada berbagai dosis radiasi kemudian ditetaskan ke dalam mangkuk enamel yang diisi air. Setelah satu minggu dilakukan pengamatan telur steril dan fertil. Telur steril adalah telur yang tidak dapat menetas setelah ditetaskan dalam jangka waktu tertentu, sedangkan telur fertil adalah telur yang dapat menetas setelah proses penetasan. Pengamatan telur menetas dan tidak menetas dengan menghitung semua jentik yang ada di dalam enamel. Telur yang tidak menetas diamati di bawah mikroskop untuk dilihat ada tidaknya embrio di dalam telur. Untuk memastikan sterilitas, telur yang tidak mengandung embrio dipecah dengan menggunakan jarum bedah.

Pengamatan morfologi dan keberadaan embrio di dalam telur dilakukan di bawah mikroskop. Dibandingkan morfologi telur yang mengalami perubahan dengan morfologi telur yang normal. Telur-telur yang tidak menetas juga dihitung prosentase telur yang mengandung embrio dan tidak mengandung embrio pada masing-masing dosis penyinaran sinar gamma Co-60.

Analisa data pengaruh radiasi sinar gamma terhadap sterilitas dan perkembangan embrio dilakukan dengan menggunakan uji ANOVA.

Hasil

Variasi dosis sinar gamma Co-60 berpengaruh terhadap sterilitas telur *Culex quinquefasciatus* dengan nilai $p=0,00$. Pada dosis radiasi sinar gamma 40 Gy, 50 Gy, 60 Gy, dan 70 Gy menghasilkan sterilitas telur masing-masing adalah 20,92%, 49,89%, 89,43%, dan 100%. Sedangkan pada kontrol sterilitas yang dihasilkan adalah 0,95 (Gambar 1).

Radiasi sinar gamma selain berpengaruh terhadap sterilitas telur juga berpengaruh terhadap perkembangan embrio. Pengaruh radiasi sinar gamma terhadap perkembangan embrio dapat dilihat dari presentase telur steril yang mengandung embrio dan tidak mengandung embrio. Berdasarkan uji Anova radiasi sinar gamma berpengaruh terhadap telur steril yang tidak mengandung embrio ($p=0,003$) tetapi tidak berpengaruh terhadap telur steril yang mengandung embrio ($p=0,125$). Pada pemberian dosis 40 Gy diperoleh berbagai bentuk perubahan morfologi telur steril. Morfologi telur yang dihasilkan pada iradiasi 40 Gy antara lain telur steril yang berbentuk normal tanpa embrio, telur

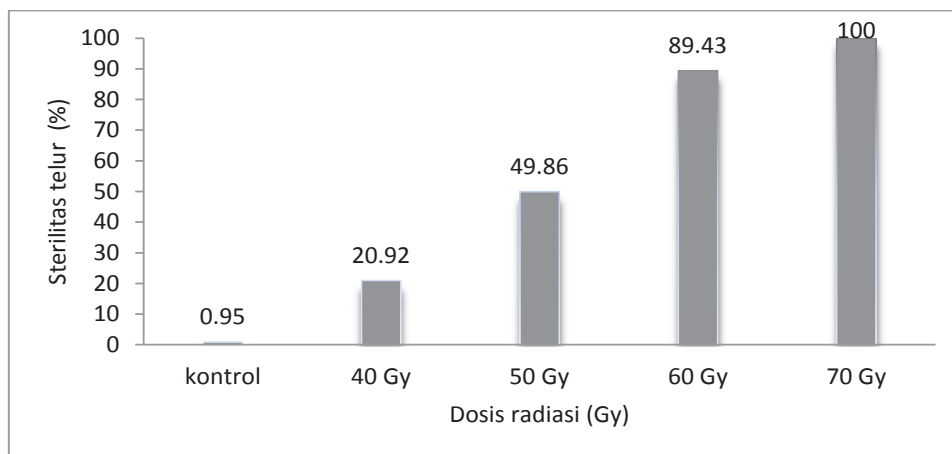
steril berembrio dengan bentuk normal, telur steril dengan perubahan bentuk morfologi luar, serta telur steril dengan embrio tidak berhasil keluar dari telur (Gambar 2).

Perubahan morfologi telur steril juga terjadi pada dosis 50 Gy, hal ini terlihat telur-telur steril yang dihasilkan ada yang mengandung embrio dan tidak berembrio, selain itu diperoleh telur-telur yang mengalami perubahan bentuk diantaranya telur steril dihasilkan berubah bentuk menjadi keriput (Gambar 3).

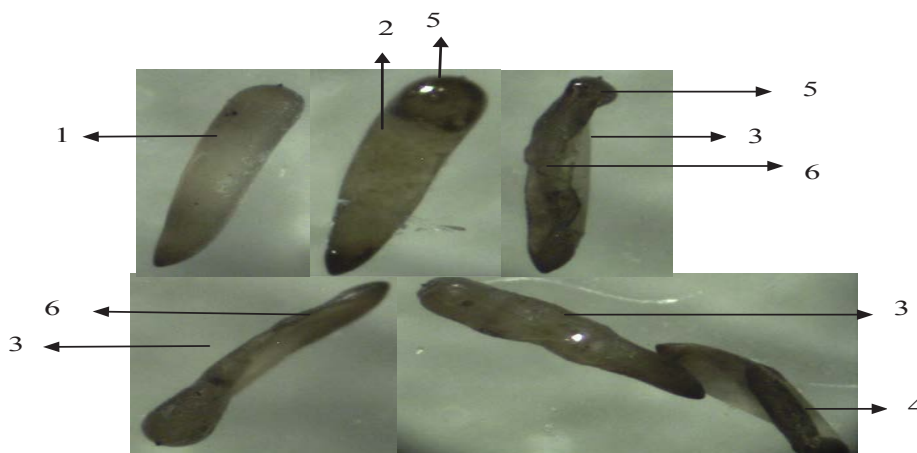
Radiasi pada dosis 60 Gy dan 70 Gy secara umum menyebabkan sebagian kecil telur-telur yang dihasilkan mengalami perubahan bentuk morfologi luar tetapi secara keseluruhan sebagian besar telur-telur tidak mengandung embrio. Pada dosis 60 Gy terdapat kecenderungan perubahan bentuk morfologi telur menjadi sedikit melengkung, sedangkan pada dosis radiasi 70

Gy perubahan bentuk morfologi telur cenderung menjadi keriput (Gambar 4 dan 5).

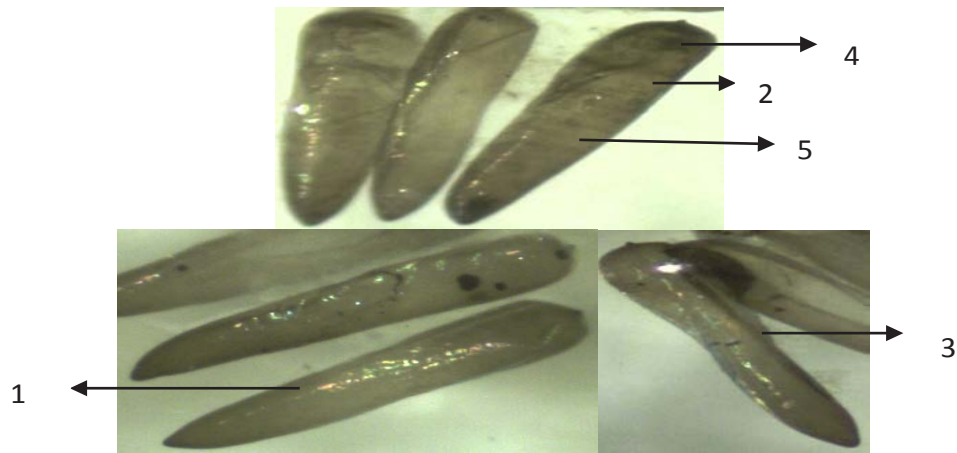
Pada Pengamatan telur steril terdapat telur steril yang mengandung embrio dan tidak berembrio. Semakin tinggi dosis radiasi sinar gamma Co-60 menyebabkan telur yang dihasilkan tidak mengandung embrio. Hal ini dapat dilihat pada kontrol diperoleh telur steril tidak menandung embrio 25% , dan telur yang mengandung embrio 75%, sedang pada dosis radiasi 40 Gy telur-telur yang tidak menetas ketika diamati di bawah mikroskop 29,36% mengandung embrio dan 70,66% mengandung embrio. Pada dosis 50 Gy 16,71% telur berembrio dan 86,56% tidak berembrio, sedangkan pada dosis 60 Gy 9,35 % telur mengandung embrio dan 90,64% tidak berembrio. Dosis 70 Gy menyebabkan semua telur yang dihasilkan tidak mengandung embrio (Gambar 6).



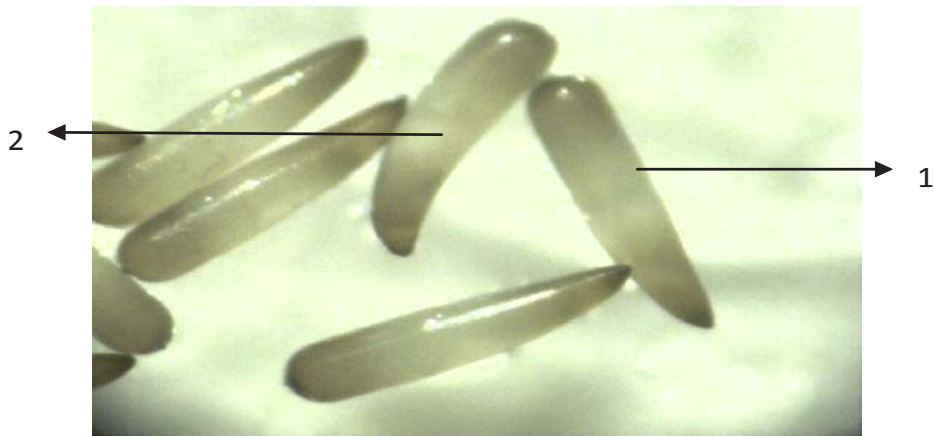
Gambar 1. Rata-Rata sterilitas telur *Cx. quinquefasciatus* yang dihasilkan pada variasi dosis radiasi sinar gamma Co-60 di Laboratorium tahun 2011.



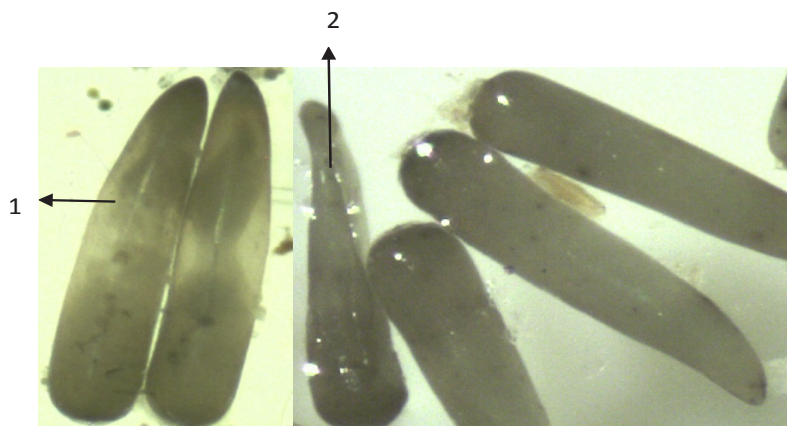
Gambar 2. Perubahan morfologi telur steril *Cx. quinquefasciatus* pada pemberian dosis radiasi sinar gamma Co-60 40 Gy. Telur steril dengan morfologi normal tanpa embrio (1) telur steril bentuk normal berembrio (2), telur steril dengan perubahan bentuk morfologi (3) dan telur steril dengan embrio tidak berhasil keluar (4) kepala embrio nyamuk (5) dan badan embrio nyamuk (6).



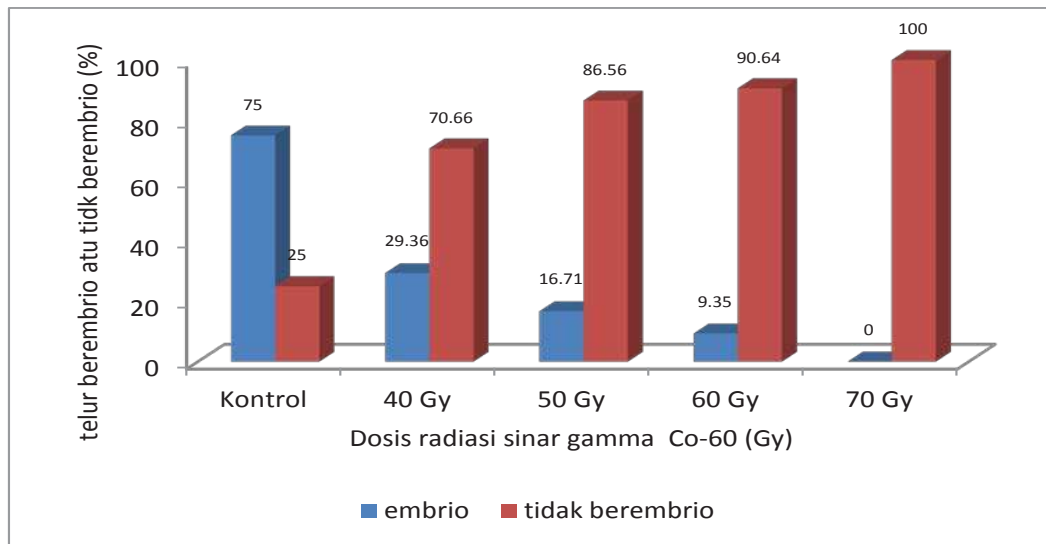
Gambar 3. Perubahan morfologi telur steril *Cx. quinquefasciatus* pada dosis radiasi sinar gamma Co-60 50 Gy. Telur steril dengan morfologi normal (1), telur steril bentuk normal berembrio (2), dan telur steril dengan perubahan bentuk morfologi (3), kepala embrio (4) dan badan embrio (5).



Gambar 4. Perubahan morfologi telur steril *Cx. quinquefasciatus* pada dosis radiasi sinar gamma Co-60 60 Gy. Telur steril dengan morfologi normal (1), dan telur steril dengan perubahan bentuk morfologi (2).



Gambar 5. Perubahan morfologi telur steril *Cx. quinquefasciatus* pada dosis radiasi sinar gamma Co-60 70 Gy. Telur steril dengan morfologi normal (1) dan telur steril dengan perubahan bentuk morfologi (2).



Gambar 6. Rata-rata perkembangan embrio *Cx.quiquefasciatus* pada variasi dosis radiasi sinar gamma Co-60 di laboratorium 2011.

Pembahasan

Variasi dosis radiasi sinar gamma Co-60 berpengaruh terhadap sterilitas telur *Cx.quiquefasciatus*. Pengamatan telur steril pada variasi dosis berpengaruh terhadap terbentuknya telur steril tidak berembrio, akan tetapi tidak berpengaruh terhadap terbentuknya telur berembrio. Telur steril terbentuk karena terjadi pembuahan sel telur dengan sperma yang tidak normal. Sperma tidak normal dikarenakan proses radiasi sinar gamma Co-60 pada pupa *Cx.quiquefasciatus* jantan yang sedang mengalami spermatogenesis. Pada proses spermatogenesis sel-sel sperma membelah dengan cepat. Apabila sel-sel tersebut terkena radiasi kromatin pada sperma akan mengalami perubahan sehingga terbentuk sperma-sperma tidak normal.¹⁸ Sperma tidak normal mempunyai kepala kecil dan ekor pendek serta mobilitas rendah. Sedangkan sperma normal berukuran lebih besar dan memiliki mobilitas lebih tinggi.¹⁸ Sterilitas telur juga bisa terjadi karena tidak terjadi pembuahan antara sperma steril dengan sel telur karena *Cx.quiquefasciatus* jantan tidak mampu dengan sempurna melakukan kopulasi dengan betina di alam akibat organ genitalnya mengalami perubahan sehingga sperma tidak bisa tersalur dengan sempurna.¹⁹

Semakin tinggi dosis radiasi sinar gamma yang diberikan semakin besar presentase telur steril yang dihasilkan. Hal ini disebabkan semakin

tinggi dosis radiasi akan memperbesar proses kerusakan sperma. Besarnya sperma yang rusak atau tidak normal akan memperbesar terbentuknya telur-telur steril. Berdasarkan hasil pengamatan telur steril hasil perkawinan jantan steril dengan betina normal ditemukan telur berembrio dan tidak berembrio. Semakin tinggi dosis radiasi diberikan ternyata juga menyebabkan semakin besar presentase telur steril tidak berembrio.²⁰

Dosis radiasi sinar gamma selain mempengaruhi sterilitas telur yang dihasilkan juga berpengaruh terhadap umur nyamuk. Semakin tinggi dosis radiasi yang diberikan pada stadium pupa dapat menyebabkan nyamuk yang muncul mempunyai umur yang lebih pendek. Hal ini disebabkan radiasi selain berpengaruh terhadap proses terjadinya spermatogenesis juga dapat merusak sel-sel somatik. Semakin tinggi dosis yang diberikan semakin besar kerusakan sel-sel yang ditimbulkan yang berakibat pada berkurangnya umur nyamuk.^{17,21,22} Pada proses radiasi pada pupa disarankan menggunakan pupa berumur >15 jam untuk mengurangi kematian pada stadium pupa dan kegagalan pupa muncul menjadi nyamuk. Berdasarkan pengamatan pada *An. arabiensis* radiasi pada pupa berumur 22-26 jam dapat mengurangi kematian pupa dan kegagalan pupa jadi nyamuk jika dibandingkan pada pupa yang berumur lebih muda.¹⁷

Radiasi sinar gamma dapat memberikan pengaruh yang berbeda pada tiap spesies. Berdasarkan penelitian radiasi sinar gamma dosis

60 Gy terhadap nyamuk *Cx. quinquefasciatus* jantan dapat menyebabkan sterilitas telur dihasilkan rata-rata 89,43% dan pada dosis 70 Gy sterilitas telur 100%. Penelitian Hosada (1972) melaporkan bahwa radiasi pada *Culex pipiens molestus* (F) dosis 100 Gy dan 120 Gy masing-masing menyebabkan sterilitas telur sebesar 99,1% dan 99,9%, sedangkan radiasi terhadap *Aedes aegypti* pada dosis 65 Gy dan 70 Gy berturut-turut menyebabkan sterilitas telur sebesar 98 % dan 100%.^{7,23} Radiasi pada *An. maculatus* diketahui pada dosis 110 Gy menghasilkan sterilitas telur 97%, sedangkan pada dosis 120 Gy rata-rata sterilitas telur yang dihasilkan 99%. Berdasarkan penelitian Helins dan Knols (2008) pada *An. arabiensis* diketahui pada dosis radiasi sinar gamma 70 Gy sterilitas telur yang dihasilkan adalah 50 % sedangkan pemberian dosis radiasi 120 Gy telur-telur steril yang dihasilkan adalah 100%.^{19,24}

Berdasarkan hasil penelitian ini apabila dibandingkan dengan penelitian lain menggambarkan bahwa studi pendahuluan variasi dosis radiasi sinar gamma sangat penting dilakukan di laboratorium terlebih dahulu untuk menentukan dosis yang tepat apabila akan dilakukan aplikasi di alam.

Kesimpulan

Dosis 70 Gy radiasi sinar gamma Co-60 optimum dapat digunakan untuk mensterilkan telur. Dosis tersebut juga dapat menghambat perkembangan telur telur *Cx. quinquefasciatus*

Saran

Perlunya aplikasi TSM terhadap *Cx. quinquefasciatus* dalam skala lebih luas sebelum aplikasi ke lapangan.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada kepala B2P2VRP Salatiga, segenap peneliti dan tehni B2P2VRP Salatiga dan BATAN yang membantu dalam proses penelitian ini.

Daftar Pustaka

1. Becker N, Petric D, Zgomba M, Boase C, Dahl C, Madon M, Kaiser A. Mosquitoes and their Control. Springer: London New York. 2010.

2. Yadav K, Dhiman S, Baruah I, Singh L. Effect of Gamma Radiation on survival and fertility of male *Anopheles stephensi* liston, irradiated as pharate adults. Journal of Ecobiotechnology. 2010;2(4).
3. Esteva L, Yang HM. Control of Dengue vector by the sterile insect technique considering logistic recruitment. TEMA Tend. Mat. Apl. Comput. 2006;7(2).
4. Parker A, Mehta K. Sterile Insect Technique: A model for dose optimization for improved sterile insect quality. Florida Entomologist. 2007;90(1).
5. Oka IN. Pengendalian hama terpadu. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. 1995.
6. Alan C, Bartlett, Robert T. The sterile Insect Release Method and Other Genetic Control Strategies. 2009. [internet] Available from: <<http://ipmworld.umn.edu/chapters/bartlett.htm>> [Accessed 31 Juli 2010]
7. Rahayu A. Pengendalian Vektor Penyakit DBD *Aedes aegypti* Dengan Teknik Serangga Mandul (TSM) [internet] Available from :< www.pestclub.com > [Accessed 11 November 2009].
8. Supartha IW. Pengendalian Terpadu Vektor Virus Demam berdarah Dengue, *Aedes aegypti* (Linn) dan *Aedes albopictus* (Skuse)(Diptera: Culicidae) [internet] Available from: <http://dies.unud.ac.id/wp-content/uploads/2008/09/makalah-supartha_baru.pdf> [Accessed 19 Februari 2010].
9. FAO and EAEA. Laboratory Training Manual on the Use of Nuclear Techniques in Insect Research and Control. International Atomic Energy Agency. Vienna. 1992.
10. Alphey L, Benedict M, Bellini R, Clark GG, Dame DA, Service MK, and Dobson SL. Sterile-Insect Methods for Control of Mosquito-Borne Diseases: [cited 23 Juli 2013] Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2946175>
11. Thome RCA, Yang HM, and Esteva L. Optimal Control of *Aedes aegypti* Mosquitoes by the Sterile Insect Technique and Insecticide: [cited 26 Juli 2013] Available from: <http://www.elsevier.com/locate/mbs>
12. IAEA. Radiation Induced F1 Sterility in Lepidoptera for Area-Wide Control. Proceedings of the Final Research Coordination Meeting, Phoenix, Arizona. Viena. 1991.
13. Follett PA. Irradiation to Control Insects in Fruits and Vegetables for Export from Hawaii. Rad Phy. Chem. 2004.
14. Belkin JN. The Mosquitoes of the South Pacific (Diptera, Culicidae). Los Angeles: University of California Press. 1962.
15. Sharma VP, Razdan RK, and Ansari MA. *Anopheles stephensi*: Effect of Gamma Radiation and Chemosterilans on the Fertility and Fitness for Sterile Male Release. J. Econ. Entomology.

- 1978
16. Helinski MEH, Parker AG, and Knl BGJ. Radiation-Induced Sterility for Pupal and Adult Stages of the Malaria Mosquitoes *Anopheles arabiensis*. *Malaria Journal*. 2006.
 17. Curtis CF. Radiation Sterilization. Report on Mosquito Research. Ross Institute of Tropical Hygiene. 1976.
 18. Helinski MEH, Parker AG, and Knols BGJ. Radiation Biology of Mosquitoes. 2009. [internet], November. Available from: <<http://www.malariajournal.com/content/8/S2/S6>> [Accessed 26 Agustus 2010].
 19. Helinski MEH, and Knols BGJ. Mating competitiveness of male *Anopheles arabiensis* mosquitoes irradiated with a partially-or fully-sterilising dose in small and large laboratory cages. 2008. [internet], Available from: <<http://edepot.wur.nl/122013>> [Accessed 26 Agustus 2010].
 20. Helinski MEH, and Knols BGJ. Sperm quantity and size polymorphism in un-irradiate male of the malaria mosquito *Anopheles arabiensis* patton. 2008. [internet], Available from: <<http://edepot.wur.nl/122013>> [Accessed 26 Agustus 2010].
 21. Abdel-Malex AA, Tantawy AO, Wakid AM. Studies on the eradication of *Anopheles pharoensis* Theobald by the Sterile Male Technique Using Cobalt-60. III Determination of the Sterile Dose and its Biological Effects on Different Characters Related to Fitness Components. *Journal Econ Entomology*. 1967;60(1).
 22. Hendrichs VADJ, Robinson AS. Sterile Insect Technique Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management. Springer. 2005.
 23. Hosada H. The Effect of Gamma Irradiation on Fertility and mating Competitiveness of the Mosquito, *Culex pipiens molestus* F (Diptera: Culicidae). *Applied entomology and Zoology*. 1972.
 24. Nurhayati S, Tetriana D, Rahayu A, Santoso B. Pemandulan *Anopheles maculatus* sebagai Vektor Penyakit Malaria Dengan Radiasi Gamma Co-60. 2008. [internet] Available from: <<http://nhc.batan.go.id/documen>> [Accessed 11 November 2010].