

PENELITIAN | RESEARCH

Aktivitas enzim monooksigenase pada populasi nyamuk *Aedes aegypti* di Kecamatan Tembalang, Kota Semarang

Monooxygenase activity in Aedes aegypti population in Tembalang subdistrict, Semarang city

Dyah Widiastuti^{1*}, Sunaryo¹, Nova Pramestuti¹, Martini²

¹Balai Litbang Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang (P2B2) Banjarnegara, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Jl. Selamanik No 16 A Banjarnegara 53415, Jawa Tengah, Indonesia

²Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Diponegoro, Jl. Prof. H. Soedharto, SH, Tembalang, Semarang 50275, Jawa Tengah, Indonesia

Abstract. *Dengue Haemorrhagic Fever (DHF) is a major health problem in Tembalang sub district, Semarang City. Fogging with insecticide applications was done frequently as an effort to control Dengue vectors. The use of insecticides from the same class in a long time can lead to resistance in mosquitos' population. The research aimed to observe the activity of monooxygenases in Aedes aegypti populations in Tembalang Subdistrict, Semarang. The study was conducted during February-November 2014 with a cross-sectional design in 10 villages in Tembalang Subdistrict, Semarang City. Field strains of Ae. aegypti eggs were collected using ovitraps. The collected eggs were grown under standard condition to adult mosquitoes. Mosquitos' homogenate were stored at -85 °C and used for biochemical assays. The results showed there was increased monooxygenases activity in Ae. aegypti populations. Resistance to synthetic pyrethroid insecticide in Ae. aegypti mosquitoes population in Tembalang Subdistrict might be caused by the mechanism of detoxification enzymes in particular monooxygenases*

Keywords: *monooxygenase, insecticide, Ae. aegypti, resistance*

Abstrak. Demam Berdarah Dengue (DBD) masih menjadi masalah kesehatan utama di Kecamatan Tembalang, Kota Semarang. Tindakan *fogging* untuk pengendalian vektor DBD sering dilakukan. Penggunaan insektisida dari golongan yang sama dalam waktu cukup lama dapat memicu terjadinya resistensi. Tujuan penelitian untuk mengamati aktivitas enzim monooksigenase pada populasi nyamuk *Aedes aegypti* di Kecamatan Tembalang, Kota Semarang. Penelitian dilaksanakan bulan Februari-November 2014 dengan desain potong lintang di 10 desa di Kecamatan Tembalang, Kota Semarang. Pada penelitian ini dilakukan pemasangan ovitrap untuk mendapatkan sampel telur yang dipelihara menjadi nyamuk dewasa. Sampel homogenate nyamuk disimpan pada suhu -85°C, selanjutnya dilakukan pengujian resistensi dengan uji biokimia untuk melihat aktivitas enzim monooksigenase. Hasil pengujian menunjukkan terdapat peningkatan aktivitas enzim monooksigenase. Resistensi terhadap insektisida sintetik piretroid pada populasi nyamuk *Ae. aegypti* di Kecamatan Tembalang disebabkan oleh mekanisme peningkatan enzim detoksifikasi khususnya monooksigenase.

Kata Kunci: monooksigenase, insektisida, *Ae. aegypti*, resistensi

Naskah masuk: 26 Januari 2015 | Revisi: 29 Mei 2015 | Layak terbit: 3 Juni 2015

* Korespondensi: umi.azki@gmail.com | Telp/Faks: +62 (0286)594972

LATAR BELAKANG

Aedes aegypti adalah vektor utama penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) di berbagai belahan dunia, termasuk di Indonesia.^{1,2} Penyakit DBD merupakan penyakit tular vektor yang sering menyebabkan epidemi di suatu daerah.³ Kota Semarang sejak 2008 hingga 2012 menempati peringkat pertama angka kejadian DBD untuk tingkat Jawa Tengah dan pada 2013 turun menjadi peringkat kedua di tingkat provinsi.⁴ Puncak angka kejadian DBD di Kota Semarang terjadi tahun 2010 dengan IR 368,7/100.000 penduduk. Angka kejadian DBD cenderung menurun sejak tahun 2011-2014. Pada tahun 2013 terdapat 2.364 kasus (IR 134,09/100.000 penduduk) menurun menjadi 1.262 kasus (IR 71,58/100.000 penduduk) sampai Bulan September 2014.⁵

Kepadatan jentik *Ae. aegypti* pada tiga kelurahan di Kota Semarang cukup tinggi. Hasil survei Sunaryo et al. di Kota Semarang tahun 2013 menunjukkan Angka Bebas Jentik (ABJ) di Tembalang sebesar 87%, Gunungpati sebesar 72,45% dan Sampangan 69%.⁶ Nilai ABJ tersebut masih di bawah ambang batas aman penularan yang ditetapkan Kementerian Kesehatan maupun WHO, yaitu sebesar 95%.^{1,7}

Berbagai upaya pencegahan infeksi arbovirus telah dilakukan, namun belum mencapai hasil yang maksimal. Upaya penanggulangan penyakit tersebut sangat bergantung pada program pengendalian vektor, karena tuntasnya penanganan kasus belum dapat memutus rantai penularan.^{3,7} Salah satu upaya pengendalian vektor yaitu melalui pemutusan rantai penularan dengan cara pemberantasan nyamuk dewasa menggunakan insektisida (*fogging*). Sampai saat ini masih sering dijumpai *fogging* yang tidak tepat dosis dan tidak tepat sasaran. Hal inilah yang memicu terjadinya resistensi selain kenyataan bahwa beberapa tempat menggunakan insektisida golongan yang sama dalam waktu cukup lama. Resistensi serangga terhadap insektisida umumnya terjadi setelah masa penggunaan 2 -20 tahun.⁸

Faktor lain yang memicu terjadinya resistensi insektisida adalah penggunaan insektisida oleh masyarakat. Penggunaan pestisida rumah tangga di Indonesia mulai meningkat sejak tahun 1970-an dan selanjutnya menjadi bagian yang tak terpisahkan bagi kehidupan masyarakat perkotaan dan sebagian perdesaan. Berdasarkan data dari Komisi Pestisida, Departemen Pertanian, jumlah pestisida rumah tangga dan jenis bahan aktif yang didaftarkan dan mendapatkan ijin beredar mengalami peningkatan.⁹

Hasil penelitian Sunaryo et al. tahun 2013 di Kota Semarang menunjukkan bahwa 54,67%

rumah tangga memilih menggunakan insektisida rumah tangga untuk menghilangkan gangguan nyamuk di lingkungan rumah.⁶ Salah satu golongan insektisida sintetik yang banyak ditemukan pada pestisida rumah tangga adalah sintetik piretroid.

Uji biokimia dengan mengamati aktivitas enzim detoksifikasi merupakan salah satu cara untuk mengetahui mekanisme resistensi pada vektor di suatu wilayah. Enzim monooksigenase merupakan salah satu enzim yang terlibat dalam proses metabolisme senyawa xenobiotik pada tubuh serangga. Adanya peningkatan aktivitas enzim tersebut dapat menjadi salah satu penyebab terjadinya resistensi terhadap insektisida khususnya golongan sintetik piretroid.^{10,11}

Resistensi nyamuk *Ae. aegypti* terhadap insektisida golongan sintetik piretroid telah dilaporkan di berbagai negara, termasuk Indonesia. *Ae. aegypti* dilaporkan resisten terhadap insektisida piretroid di Thailand dan Pulau Martinique Perancis.^{12,13} Penelitian Widiarti et al. tahun 2010 di Daerah Istimewa Yogyakarta (Kota Yogyakarta, Kabupaten Bantul dan Sleman) dan wilayah Jawa Tengah (Jepara, Blora, Kota Semarang, Kota Salatiga, Kota Surakarta, Kota Tegal, Kota Magelang, dan Kota Purwokerto) menunjukkan bahwa di beberapa daerah lokasi survei telah terjadi resistensi *Ae. aegypti* terhadap insektisida malathion 0,8%, bendiokarb 0,1%, lambda-sihalotrin 0,05%, permethrin 0,75%, deltamethrin 0,05%, dan etofenprok 0,5%.¹⁴ Penelitian Sayono et al. tahun 2012 di Kota Semarang menunjukkan adanya status resisten pada golongan cypermethrin 0,05%.¹⁵ Penelitian Sunaryo tahun 2013 menunjukkan pada lokasi survei di Kota Semarang, Grobogan, Purbalingga dan Kendal *Ae. aegypti* telah resisten terhadap malathion 0,8% dan permethrin 0,25%.⁶

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengamati aktivitas enzim monooksigenase pada populasi nyamuk *Ae. aegypti* di Kecamatan Tembalang, Kota Semarang yang kemungkinan berkaitan dengan status resistensi nyamuk terhadap insektisida sintetik piretroid.

BAHAN DAN METODE

Penelitian yang dilaksanakan pada bulan Februari-November 2014 ini menggunakan desain potong lintang (*cross sectional*). Unit analisis adalah individu nyamuk *Ae. aegypti* dari lokasi penelitian meliputi 10 desa di Kecamatan Tembalang, Kota Semarang antara lain Rowosari, Meteseh, Bulusan, Sambiroto, Mangunharjo, Sendangmulyo, Tandang, Kedung Mundu, Sendangguwo, dan Jangli.

Pengumpulan Sampel Nyamuk

WHO menyatakan bahwa uji biokimia untuk mengamati aktivitas enzim yang berkaitan dengan resistensi nyamuk dapat dilakukan dengan menggunakan sampel larva instar 3 dan 4 atau nyamuk dewasa.¹⁶ Sampel nyamuk *Ae. aegypti* se-bagai bahan uji diperoleh dengan pemasangan ovitrap pada 20 rumah per desa yang dipilih secara purposif. Pemasangan ovitrap dilakukan untuk menangkap telur *Aedes* sp. Telur nyamuk yang diperoleh dibiakkan di Laboratorium Pengembangbiakan Nyamuk Uji Balai Litbang P2B2 Banjarnegara hingga diperoleh nyamuk *Ae. aegypti* dewasa dengan umur 3-5 hari.

Uji Biokimia

Sampel nyamuk dihomogenisasi secara individual dalam 200 µl buffer fosfat (pH 7,4). Sampel homogenate nyamuk disimpan pada suhu -85°C sampai tahap pemeriksaan selanjutnya untuk mencegah kerusakan protein enzim.¹⁶ Sebanyak 20 µl aliquot dari homogenate masing-masing nyamuk dimasukkan dalam sumuran *microplate*, lalu ditambahkan 80 µl buffer fosfat. Selanjutnya pada masing-masing sumuran ditambahkan 200 µl substrat TMB dan 25 µl larutan H₂O₂ 3%. *Microplate* diinkubasi selama 2 jam pada suhu ruang. Intensitas warna yang dihasilkan pada masing-masing sumuran diukur absorbansinya menggunakan *microassay reader* pada panjang gelombang 630 nm.¹⁶ *Cut off point* nilai *Optical Density* (OD) untuk menentukan sampel nyamuk yang resisten adalah 0,165.¹⁷

Etik Penelitian

Tulisan ini merupakan ekstraksi dari penelitian "Peta Kerentanan Vektor Demam Berdarah Dengue *Aedes aegypti* di Provinsi Jawa Tengah". Etik penelitian diperoleh dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (Nomor LB.02.01/5.2/KE.234/2013).

HASIL

Hasil penelitian menunjukkan dari 81 ekor nyamuk *Ae. aegypti* yang diuji secara biokimia, 78 ekor (96,30%) diantaranya positif menunjukkan aktivitas enzim monooksigenase di tubuhnya. Hasil pengujian biokimia ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil reaksi biokimia berupa perubahan warna untuk melihat adanya aktivitas enzim monooksigenase

Hasil pengujian secara biokimia menunjukkan secara kualitatif ada aktivitas enzim monooksigenase yang ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna menjadi hijau biru pada sumuran *microplate* (Gambar 1). Secara kuantitatif nilai *Optical Density* (OD) hasil pembacaan dengan *microassay reader* pada panjang gelombang 630 nm, nilai OD dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 menunjukkan 96,30% nilai OD sampel nyamuk yang diperiksa melebihi dari nilai *cut off point*. Nilai *cut off point* mengacu pada penelitian Matowo yang menyatakan bahwa nilai *optical density* sebesar 0,165 pada pembacaan dengan panjang gelombang 630 nm dapat digunakan untuk membedakan individu nyamuk *Anopheles arabiensis* yang rentan dan resisten terhadap insektisida golongan piretroid sintetik.¹⁷

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada sebagian besar (96,30%) homogenate sampel nyamuk uji terdapat aktivitas enzim monooksigenase. Peningkatan aktivitas enzim monooksigenase pada populasi nyamuk *Ae. aegypti* di Semarang dapat menjadi kewaspadaan dini akan adanya kemungkinan resistensi terhadap insektisida khususnya dari golongan sintetis piretroid. Monooksigenase merupakan salah satu enzim yang terlibat dalam proses metabolisme xenobiotik (senyawa racun) di tubuh serangga yang dapat berdampak terhadap status resistensi serangga terhadap insektisida. Keterlibatan enzim monooksigenase pada resistensi serangga terhadap senyawa piretroid sintetis telah banyak dikaji pada berbagai spesies serangga vektor, seperti nyamuk *Anopheles gambiae* resisten terhadap permethrin dan deltamethrin di Afrika,

Tabel 1. Nilai *Optical Density* (OD) sampel nyamuk *Ae. aegypti* dengan panjang gelombang 630 nm

Sampel	Nilai OD (nm)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,343	0,506	0,325	1,628	0,968	1,79	0,989	2,109	0,466	0,964	1,406	0,912
B	0,682	1,062	0,652	0,992	0,446	0,268	0,688	0,27	0,556	0,607	0,532	1,681
C	0,429	1,01	0,361	0,361	0,9	1,157	1,257	0,323	0,347	0,598	0,828	0,231
D	0,429	0,837	0,439	0,51	0,334	0,572	0,248	0,424	0,59	1,391	0,714	0,54
E	0,434	0,351	0,366	0,449	0,459	0,218	0,607	1,13	0,395	0,787	0,227	0,456
F	0,063*	0,229	0,32	0,313	0,267	1,244	1,476	0,842	0,163*	0,373	0,894	0,142*
G	1,115	0,196	0,323	0,207	0,383	1,009	0,41	0,441	0,544			
H			0,122	0,041								

Keterangan:

* = nilai OD kurang dari cut off point (0,165) menunjukkan sampel yang rentan

spesies *Ae. aegypti* resisten terhadap permethrin dan deltamethrin di Meksiko dan Thailand.¹⁸

Resistensi *Ae. aegypti* terhadap insektisida lamdasihalotrin 0,05%, dan permethrin 0,05% telah dilaporkan pada tahun 2010¹⁴ dan permethrin 0,25% tahun 2013 di Kota Semarang.⁶ Jika insektisida telah terbukti resisten, maka perlu dilakukan rotasi penggunaan insektisida. Penggunaan insektisida dengan jenis dan cara kerja yang sama secara terus-menerus tidak akan efektif diaplikasikan pada populasi nyamuk yang resisten. Pergantian jenis dan cara kerja insektisida untuk pengendalian vektor harus dilakukan dalam waktu maksimal 2-3 tahun atau 4-6 kali aplikasi.¹⁹

Hasil penelitian Sunaryo menunjukkan bahwa insektisida sintetik piretroid (Cynof) telah digunakan oleh Dinas Kesehatan Kota Semarang untuk kegiatan *fogging* sebagai upaya pengendalian populasi *Ae. aegypti* di Kota Semarang sejak tiga tahun terakhir (2012-2014).⁶ Pada tahun-tahun sebelumnya jenis insektisida yang digunakan adalah malathion. Hasil wawancara dengan masyarakat di Kota Semarang juga menunjukkan bahwa 54,67% masyarakat menggunakan insektisida rumah tangga yang berbahan aktif sintetik piretroid.

Terjadinya resistensi dipengaruhi beberapa faktor, terutama penggunaan insektisida dalam waktu yang lama (sekitar 2-20 tahun)⁸ dan dosis yang tidak tepat. Faktor pendukung terjadinya resistensi adalah penggunaan insektisida yang sama atau sejenis secara terus-menerus, penggunaan bahan aktif atau formulasi yang mempunyai aktifitas yang sama, efek residual lama dan biologi spesies vektor. Penyemprotan residual memberi peluang lebih besar menciptakan generasi resisten dibandingkan dengan cara aplikasi lain, karena peluang kontak antara vektor dengan bahan aktif lebih besar. Faktor pendukung lainnya adalah penggunaan insektisida yang sama terhadap semua stadium per-

tumbuhan vektor (telur, larva, pupa dan dewasa). Oleh karena itu, untuk mencegah dan mengurangi terjadinya percepatan resistensi, sebaiknya tidak menggunakan insektisida dari jenis dan atau golongan insektisida yang cara kerjanya sama untuk pengendalian stadium pra-dewasa dan dewasa.¹⁹

Karakteristik resistensi insektisida adalah diturunkan ke generasi berikutnya, dan dalam kebanyakan kasus telah terbukti karena faktor resistensi yang melibatkan perubahan genetik (alel gen). Pada populasi nyamuk, resistensi dapat disebabkan oleh proses seleksi, yang meningkatkan proporsi genotif resisten dengan membunuh individu nyamuk dengan alel rentan normal. Resistensi populasi nyamuk lapangan hampir selalu mengandung beberapa heterogenitas, dan alel rentan terus menyusup dari daerah sekitarnya yang tidak terpapar insektisida.²⁰

Mekanisme yang bertanggung jawab terhadap resistensi insektisida sangat kompleks dan mencakup perubahan perilaku dan atau fisiologis nyamuk untuk menjauhi insektisida, mencegah masuknya senyawa insektisida, perubahan sisi target atau biodegradasi oleh enzim detoksifikasi. Pada nyamuk, resistensi terutama dihubungkan dengan modifikasi sisi target dan ketahanan metabolik. Resistensi sisi target melibatkan kejadian mutasi yang menyebabkan perubahan sisi target insektisida dan resisten terhadap bahan kimia.¹⁸

Adanya peningkatan aktivitas enzim monooksigenase pada populasi nyamuk *Ae. aegypti* di Kecamatan Tembalang, Kota Semarang mengindikasikan bahwa berdasarkan penelitian Sunaryo tahun 2013,⁶ resistensi nyamuk *Ae. aegypti* di lokasi tersebut dipengaruhi proses biodegradasi dalam tubuh nyamuk khususnya oleh enzim monooksigenase. Adapun peningkatan aktivitas enzim kemungkinan disebabkan adanya paparan insektisida golongan sintetik piretroid baik yang

digunakan oleh program (Dinas Kesehatan Kota Semarang) maupun masyarakat.

Enzim monooksigenase ditemukan pada organisme aerobik, meliputi serangga, tumbuhan, mamalia, burung dan bakteri. *Cytochrome P450* merupakan suatu hemoprotein yang berperan dalam oksidasi terminal pada sistem monooksigenase. Pada organisme eukariot, *cytochrome P450* ditemukan di organel retikulum endoplasma dan mitokondria. Enzim monooksigenase memiliki kemampuan untuk mengoksidasi berbagai jenis substrat dan mengkatalisasi berbagai jenis reaksi.²¹

Enzim monooksigenase sering disebut juga *cytochrome P450* yang berperan penting dalam sistem metabolik, karena enzim ini terlibat dalam pengaturan titer senyawa endogen seperti hormon, asam lemak dan steroid. Selain itu, enzim ini juga terlibat dalam reaksi katabolisme dan anabolisme senyawa racun (xenobiotik) seperti pestisida dan racun tanaman. Enzim monooksigenase dapat mendetoksifikasi insektisida dari golongan pyrethroid, serta terlibat pula baik dalam reaksi bioaktivasi maupun detoksifikasi insektisida dari golongan organofosfat.²¹

KESIMPULAN

Sebagian besar populasi nyamuk *Ae. aegypti* (96,3%) di Kecamatan Tembalang telah mengalami peningkatan aktivitas enzim monooksigenase. Hal ini mengindikasikan bahwa resistensi terhadap insektisida sintetik piretroid pada populasi nyamuk *Ae. aegypti* di Kecamatan Tembalang disebabkan oleh mekanisme peningkatan enzim detoksifikasi khususnya monooksigenase.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Dinas Kota Semarang dan jajarannya, Puskesmas Kedungmundu dan Rowosari yang telah membantu pelaksanaan penelitian, serta rekan-rekan teknis di Instalasi Bakteriologi Balai Litbang P2B2 Banjarnegara yang membantu pelaksanaan uji biokimia.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ahmad S, Suseno U, Hasnawati, et al. Profil Kesehatan Indonesia 2008. Departemen Kesehatan RI. Jakarta; 2009.
2. World Health Organization - TDR. Dengue: Guidelines for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control. WHO Press. Geneva; 2009.

3. Chin J. Manual Pemberantasan Penyakit Menular, Cetakan II, Edisi 17. Infomedika. Jakarta; 2006.
4. Laeis Z. Lima Tahun, Kota Semarang Terbanyak Kasus DBD. 2014. Available at: <http://www.antarajateng.com/detail/lima-tahun-kota-semarang-terbanyak-kasus-dbd.html>. Accessed January 5, 2015.
5. Dinas Kesehatan Kota Semarang. Analisis Situasi DBD sampai dengan September 2014. Dinas Kesehatan Kota Semarang. Semarang; 2014.
6. Sunaryo. Peta Kerentanan Vektor Demam Berdarah Dengue *Aedes aegypti* di Provinsi Jawa Tengah. Balai Litbang P2B2 Banjarnegara. Banjarnegara; 2013.
7. World Health Organization. Pencegahan dan Pengendalian Dengue dan Demam Berdarah Dengue. EGC. Jakarta; 2005.
8. Georghio G, Melon R. Pest Resistance to Pesticides. (Georghio G, Sito T, eds.). Plenum Press. New York; 1983.
9. Yuliani TS, Elin S. Pestisida Rumah Tangga: Petunjuk Penggunaan Bagi Konsumen. 2012. Available at: <http://pepusat.org/opini/92-pestisida-rumah-tangga>. Accessed December 22, 2014.
10. Pimsamarna S, Sorngengb W, Akksilpb S, Paepornc P, Limpawitthayakul M. Detection of insecticide resistance in *Aedes aegypti* to organophosphate and synthetic pyrethroid compounds in the North-East of Thailand. *Dengue Bull.* 2009;33:194-202.
11. Walker CH, Sibly RM, Hopkin SP, Peakall DB. Principles of Ecotoxicology, Third Edition. CRC Press. New York; 2005.
12. Pethuan S, Jirakanjanakit N, Saengtharapit S, Chareonviriyaphap T, Kaewpa D, Rongnoparut P. Biochemical Studies of Insecticide Resistance in *Aedes (Stegomyia) aegypti* and *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Diptera: Culicidae) in Thailand. *Trop Biomed.* 2007;24(1):7-15.
13. Marcombe S, Poupardin R, Darriet F, et al. Exploring the Molecular Basis of Insecticide Resistance in the Dengue Vector *Aedes aegypti*: a Case Study in Martinique Island (French West Indies). *BMC Genomics.* 2009;10:494. doi:10.1186/1471-2164-10-494.
14. Widiarti, Bambang Heriyanto, Damar Tri Boewono, Umi Widyastuti, Mujiono, Lasmiati Y. Peta Resistensi Vektor Demam Berdarah Dengue *Aedes aegypti* terhadap Insektisida Kelompok Organofosfat, Karbamat dan Pyretroid di Provinsi Jawa Tengah dan Daerah Istimewa Yogyakarta. *Bul Penelit Kesehat.* 2011;39(4):176-189.

15. Sayono, Syafruddin D, Sumanto D. Distribusi Resistensi Nyamuk *Aedes aegypti* terhadap Insektisida Sipermetrin di Semarang. Semin Hasil-Hasil Penelitian-LPPM UNIMUS. 2012:263–269. Available at: <http://jurnal.unimus.ac.id>. Accessed December 12, 2012.
16. World Health Organization. Techniques to Detect Insecticide Resistance Mechanisms (Field and Laboratory Manual). WHO Communicable Disease. Atlanta; 2000.
17. Matowo J, Kulkarni MA, Mosha FW, et al. Biochemical basis of permethrin resistance in *Anopheles arabiensis* from Lower Moshi, North-Aastern Tanzania. Malar J. 2010;9:193.
18. David J, Ismail HM, Chandor-proust A, John M, Paine I. Role of Cytochrome P450s in Insecticide Resistance: Impact on the Control of Mosquito-Borne Diseases and Use of Insecticides on Earth. 2013. Available at: <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2012.0429>. Accessed December 10, 2014.
19. Dirjen P2PL. Pedoman Penggunaan Insektisida (Pestisida) dalam Pengendalian Vektor. Kementerian Kesehatan RI. Jakarta; 2012.
20. Dhang CC, Ahmad NW, Lim LH, Benjamin S, Sofian-azirun M. Biochemical Detection of Temephos Resistance in *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus) from Dengue-endemic Areas of Selangor State, Malaysia. Proc ASEAN Congr Trop Med Parasitol. 2008;3:6–20.
21. Scott JG. Insect cytochrome P450s: Thinking beyond detoxification. Insect Physiol Toxicol Mol Biol. 2008:117-204