

**DETEKSI GEN PENYANDI RESISTENSI INSEKTISIDA KARBAMAT (ACE-1)  
PADA NYAMUK AEDES AEGYPTI METODE PCR****Revi Zakiyatul Maftukhah<sup>1\*</sup>, Retno Sasongkowati<sup>2</sup>, Wisnu Istanto<sup>3</sup>, Anita Dwi  
Anggraini<sup>4</sup>**<sup>1-4</sup> Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Surabaya

Email Korespondensi: refizakiyatul@gmail.com

Disubmit: 23 Agustus 2022 Diterima: 15 September 2022 Diterbitkan: 01 Oktober 2022  
DOI: <https://doi.org/10.33024/mnj.v4i10.7571>**ABSTRACT**

*Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) is a high endemic problems, especially in the tropics. Effort to prepare for the surge in cases, it is necessary to develop in molecular level, detection of the Ace-1 gene can be used as an important indication of the resistance Aedes aegypti to carbamate insecticides. Purpose to detect the presence or absence of the Ace-1 gene of Aedes aegypti against carbamate insecticides using the PCR method. Methods descriptive quantitative analytic method of observational data. Treatments in experiment consisted of four test bottles and one control bottle. The results that appear on the detection of Ace-1 gene using RT-PCR are CT values. Results showed that from 4 existing samples, 2 of them were positive with a value, sample 1 (A01) had a CT value of 1.00, sample 4 (A04) had a CT value of 4.42 while other 2 were negative which was indicated by the emergence of N/A which means Not Available or not available primary gene in target gene. Conclusion percentage obtained was 50% of samples with Ace-1 gene detected and 50% of other samples not detecting Ace-1 gene.*

**Keywords:** *Aedes aegypti, Ace-1, CT value***ABSTRAK**

Demam Berdarah Dengue (DBD) menjadi salah satu masalah endemis yang cukup tinggi khususnya di daerah tropis. Sebagai upaya kesiapsiagaan terhadap lonjakan kasus yang terjadi perlu dikembangkan ke tingkat molekuler yaitu deteksi gen *Ace-1* yang dapat dijadikan sebagai indikasi penting dari resistensi nyamuk *Aedes aegypti* terhadap jenis insektisida golongan karbamat. Tujuan untuk mendeteksi ada tidaknya gen *Ace-1* nyamuk *Aedes aegypti* terhadap insektisida karbamat menggunakan metode PCR. Metode Penelitian deskriptif kuantitatif metode analitik data observasi. Banyaknya perlakuan dari penelitian ini terdiri dari empat botol uji dan satu botol kontrol. Hasil yang muncul pada deteksi gen *Ace-1* menggunakan RT-PCR berupa nilai CT. Hasil menunjukkan dari 4 sampel yang ada diperoleh hasil 2 diantaranya positif dengan nilai yaitu pada sampel 1 (A01) mempunyai nilai CT sebesar 1,00, pada sampel 4 (A04) mempunyai nilai CT sebesar 4,42 sedangkan 2 lainnya negatif yang ditandai dengan munculnya N/A yang berarti Not Available atau tidak tersedia gen primer pada gen target. Kesimpulan presentase yang diperoleh sebesar 50%

sampel yang terdeteksi adanya gen *Ace-1* dan 50% sampel lainnya tidak terdeteksi adanya gen *Ace-*.

**Kata kunci:** *Aedes aegypti*, *Ace-1*, nilai CT

## PENDAHULUAN

Demam Berdarah Dengue (DBD) masih menjadi salah satu kasus endemis yang cukup tinggi khususnya di daerah tropis. Dinas Kesehatan kota Surabaya melaporkan pada tahun 2016 kasus DBD mengalami peningkatan sebanyak 938 kasus. Pada tahun 2017 mengalami penurunan sebanyak 325 kasus dan terus mengalami penurunan hingga 2021. Meskipun mengalami penurunan, pentingnya kesiapsiagaan terhadap lonjakan kasus pada tahun selanjutnya perlu ditingkatkan.

Deteksi gen *Ace-1* dapat dijadikan sebagai indikasi penting resistensi nyamuk *Aedes aegypti* terhadap jenis insektisida golongan karbamat dan organofosfat karena target site dari kedua insektisida tersebut adalah asetilkolin esterase (AChE) sehingga penggunaannya dapat dimonitoring dan perlu diwaspadai untuk meningkatkan upaya pencegahan (Muhammad & Nurfady, 2019). Uji molekuler yang digunakan merupakan uji yang dilakukan dalam memastikan terjadinya resistensi pada tingkat molekuler. Dengan dilakukannya uji molekuler maka dapat diketahui gen target pada gen primer *Ace-1*. Pemeriksaan molekuler pada penelitian ini dilakukan menggunakan RealTime-PCR.

Dari penelitian yang telah dilakukan oleh Essandoh dkk (2013), Akollo dkk (2020) dan Hasmiwati (2018), peneliti ingin melakukan uji resistensi nyamuk *Aedes aegypti* terhadap insektisida golongan karbamat jenis propoxur 20% yang dilanjutkan pada pemeriksaan deteksi gen *Ace-1* sebagai gen

penyandi resistensi insektisida dari karbamat secara molekuler menggunakan metode Real Time PCR. Penelitian ini menggunakan insektisida golongan karbamat dikarenakan masih belum banyak yang meneliti uji resistensi menggunakan insektisida jenis ini dan pemeriksaannya yang kemudian dilanjutkan pada deteksi resistensi secara molekuler

## KAJIAN PUSTAKA

*Aedes aegypti* merupakan jenis nyamuk yang berperan sebagai vektor utama pembawa virus *Dengue* dan memiliki andil dalam penularan penyakit demam berdarah (Ghiffari, *et al.*, 2013). Tidak hanya sebagai vektor pembawa virus *Dengue*, *Aedes aegypti* juga sebagai vektor penyebab penyakit demam kuning dan chikungunya. Hampir setiap daerah tropis di seluruh dunia menjadi tempat penyebaran dari nyamuk *Aedes aegypti*.

Penularan penyakit hanya bisa dilakukan oleh nyamuk betina yang disebabkan karena kemampuan nyamuk betina *Aedes aegypti* dalam menghisap darah untuk memperoleh asupan protein yang diperlukan dalam memproduksi telur. Sedangkan pada nyamuk jantan memperoleh nektar bunga ataupun tumbuhan untuk kebutuhan asupannya sehingga tidak membutuhkan asupan berupa darah (I.Wati, *et al.*, 2014). Selain *Aedes aegypti*, jenis nyamuk *Aedes* lainnya yaitu *Aedes albopictus* juga merupakan vektor dari penyakit DBD. Di

laboratorium, kedua spesies nyamuk tersebut dapat menularkan virus Dengue melalui nyamuk betina dari fase telur sampai keturunannya menjadi dewasa, walaupun dalam fakta lapangan *Aedes albopictus* lebih cepat berkembang. *Aedes albopictus* umumnya merupakan jenis nyamuk dari golongan *Aedes* yang tempatnya berasal dari hutan yang beradaptasi dengan lingkungan manusia di pedesaan, pinggiran kota, dan perkotaan (Rahayu & Ustiawan, 2013)

Senyawa karbamat merupakan turunan dari asam karbamat  $\text{HOC(O)NH}_2$ . Insektisida dari kelompok karbamat bersifat sebagai racun saraf yang bekerja dengan cara menghambat kolinesterase. Pada insektisida karbamat, resistensi bersifat reversible. Insektisida dari golongan ini relatif mudah terurai di lingkungan dan tidak mudah terakumulasi dalam jaringan lemak (Djojosumarto, 2008, Fitriani, 2019).

## METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kuantitatif metode analitik data observasi. Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2021 hingga Mei 2022. berada di Laboratorium Entomologi Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur, Jl. Jendral A.Yani No. 118 kota Surabaya untuk dilakukan pengumpulan nyamuk dan deteksi resistensi secara konvensional pada nyamuk *Aedes aegypti* dengan metode CDC bottle bioassay ; Laboratorium Biologi Molekuler Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Surabaya untuk dilakukan deteksi resistensi secara molekuler untuk deteksi gen *Ace-1* pada nyamuk *Aedes aegypti*. Populasi penelitian yang digunakan adalah nyamuk *Aedes aegypti* yang berada di Laboratorium Entomologi Dinas

Metode Biologi Molekuler Menggunakan Marker DNA yang dalam perkembangan pengujian resistensi telah ditemukan mengenai kejadian resistensi yang tanpa didasari adanya mekanisme peningkatan enzim biokimiawi. Hal tersebut mendorong para ahli untuk menemukan cara lain, yaitu menggunakan uji molekuler (Khoirullisani, 2018). Uji molekuler adalah uji pembantu yang memastikan terjadinya resistensi pada tingkat molekuler. Dengan dilakukannya uji molekuler dapat diketahui gen target pada gen primer *Ace-1*. Pemeriksaan molekuler dilakukan menggunakan PCR (Utami, 2020).

*Aedes aegypti* memiliki gen pengkode enzim AChE (Asetilkolinesterase) yang sama dengan spesies nyamuk lainnya, yaitu *Ace-1*. Gen *ace-1* memiliki genome region sebanyak 138.970 bp, dan terdiri dari delapan exon, dengan tujuh intron (Strode et al., 2008, Defrian, 2019).

Kesehatan Provinsi Jawa Timur. Sampel penelitian yang digunakan adalah nyamuk *Aedes aegypti* betina berumur 2-5 hari. Pada rentang umur tersebut merupakan rentang umur nyamuk yang mempunyai daya tahan tubuh yang baik, masih kuat dan produktif. Sampel yang diambil berjumlah 100 ekor, masing-masing 20 ekor dimasukkan kedalam empat botol uji dan satu botol kontrol.

Penelitian ini diawali dari uji resistensi nyamuk menggunakan insektisida golongan karbamat yang mengandung propoxur 20%. Uji resistensi ini dilakukan pada nyamuk *Aedes aegypti* berjumlah 100 ekor, masing-masing 25 ekor dimasukkan kedalam empat botol uji dan satu botol kontrol. Pengujian resistensi nyamuk

menggunakan metode CDC bottle assay. Pada kelompok kontrol menggunakan 1 ml aseton, menggunakan insektisida karbamat sebesar 1,25 mg yang dilarutkan dalam 100 ml aseton atau etanol absolut. Botol diberi label (satu botol uji dan satu botol kontrol). Masing-masing botol yang dimasukkan bahan uji dilakukan dengan cara mengguling-gulingkan botol secara vertikal dan horizontal untuk meratakan keseluruhan bagian botol. Botol uji yang telah diberi bahan uji selanjutnya dibiarkan pada ruangan dengan suhu ruang selama 1-2 jam. Setelah 1-2 jam, kemudian nyamuk dimasukan kedalam botol uji selama waktu diagnostik yaitu 30 - 120 menit dengan melakukan pengamatan setiap 15 menit sekali menggunakan timer. Nyamuk yang mengalami resistensi dibuat suspensi untuk selanjutnya dilakukan isolasi DNA menggunakan PCR.

Suspensi yang telah dibuat selanjutnya dilakukan ekstraksi DNA. (1) Langkah pertama yaitu sebanyak 500µl sampel ditambahkan 300µl Nucleic Lysis Solution ke dalam tabung eppendorf baru. (2) Vortex sampel selama 10 detik - 1

Setelah dilakukan ekstraksi DNA sampel dilakukan uji kemurnian dan konsentrasi DNA. Pengukuran nilai DNA dilakukan menggunakan spektrofotometri menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 260 dan 280 nm. Kemurnian DNA ditentukan dengan menghitung rasio absorbansi pada A260 dengan A280 (Ratio A260 : A280) Sampel DNA yang diperoleh dari hasil ekstraksi diuji kemurniannya menggunakan nano spektrofotometer pada panjang gelombang rasio 260 nm. Masing-masing panjang gelombang spektrofotometer dikalibrasi dengan menggunakan blanko aquadest steril. Sampel DNA diukur

sedangkan pada kelompok yang diujikan

menit dan tambahkan 300µl Nucleic Lysis Solution kembali. (3) Vortex kembali selama 10 detik. (4) tambahkan 100µl Cell Lysis Solution. (5) Inkubasi selama 3 jam pada suhu 55 °C (setiap jam selesai inkubasi sampel divortex selama 30 detik). (6) setelah selesai inkubasi 3x selama 3 jam, sampel ditambahkan 200µl Protein Presipitasi lalu divortex dengan kecepatan paling tinggi selama 20 detik. (7) tempatkan pada suhu es (dianjurkan memakai es serut) selama 5 menit. Sentrifuge kecepatan 13.000rpm selama 9 menit. Pipet supernatant, dipindah ke tabung eppendorf baru dan ditambahkan 600µl Isopropanol. (8) Sentrifuge 12.000rpm selama 10 menit. Pindahkan supernatant ke tabung eppendorf baru dan ditambahkan 600µl etanol70%. (9) sentrifuge 15.000rpm selama 5 menit. (10) tabung eppendorf dibuang dengan cara dibalik dengan cepat untuk memisahkan dari endapannya. Endapan yang terbentuk ditambahkan 75µl DNA Rehydration. (11) Inkubasi sampel pada suhu 65°C selama 1 jam. absorbansinya pada panjang gelombang tersebut. Dengan rumus *Optical Density* (OD) 260/280, jika hasilnya 1,8-2,0 maka tingkat kemurnian DNA yang dihasilkan tinggi dan dapat digunakan lebih lanjut.

Pada proses amplifikasi gen *Ace-1* primer yang digunakan yaitu :  
Primer Forward : 5'CGATAACGAATGGGGAACG-3',  
Primer Reverse : 5'TCAGAGGCTCACCGAACACA-3'  
dengan hasil pembacaan 480 bp. Langkah awal PCR yang dilakukan adalah tahap denaturasi pada suhu 94°C selama tiga menit, diikuti oleh 35 siklus dengan denaturasi pada suhu 94°C selama dua menit,

annealing (penempelan) pada suhu 52°C selama satu menit, dan extension (pemanjangan) pada suhu 72°C selama tujuh menit. Hasil akhir deteksi Gen *Ace-1* Menggunakan Nilai CT.

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan agar dapat melakukan penelitian. Dengan kode etik dari Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Surabaya dengan nomor No.EA/818/KEPK-Poltekkes\_Sby/V/2022.

Analisis data tahap pertama adalah melakukan koreksi hasil uji

72°C selama dua menit, dan final extension pada

menggunakan pendekatan Abbot, yaitu jumlah kematian nyamuk dapat dianalisis lebih lanjut apabila kematian pada kontrol < 3%. Jika kematian pada botol kontrol > 10% maka pengujian resistensi harus diulang. Apabila kematian pada kontrol terjadi antara 3% - 10% maka dilakukan perhitungan data dengan menggunakan rumus Abbot yaitu :

$$\frac{(M1 [\%] - M2 [\%]) \times 100\%}{(100\% - M2 [\%])}$$

1. Konsentrasi DNA sesuai standard.

Ket :

M1 : Mortalitas pada botol uji

M2 : Mortalitas pada botol control

Tahap analisis data yang kedua yaitu identifikasi hasil kemurnian DNA dan konsentrasi DNA sesuai standart. sampel DNA diukur absorbansinya pada panjang gelombang tersebut. Dengan rumus *Optical Density* (OD) 260/280, jika hasilnya 1,8-2,0 maka tingkat kemurnian DNA yang dihasilkan

tinggi dan dapat digunakan lebih lanjut. Tahap analisis yang ketiga yaitu identifikasi Hasil amplifikasi DNA berupa nilai CT yang keluar. Nilai CT berbanding terbalik dengan jumlah target DNA pada sampel (semakin rendah nilai CT menunjukkan jumlah hasil target DNA yang besar).

### HASIL PENELITIAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai deteksi gen *Ace-1* pada uji resistensi

nyamuk *Aedes aegypti* metode CDC didapatkan hasil uji resistensi yang diperoleh sebagai berikut :

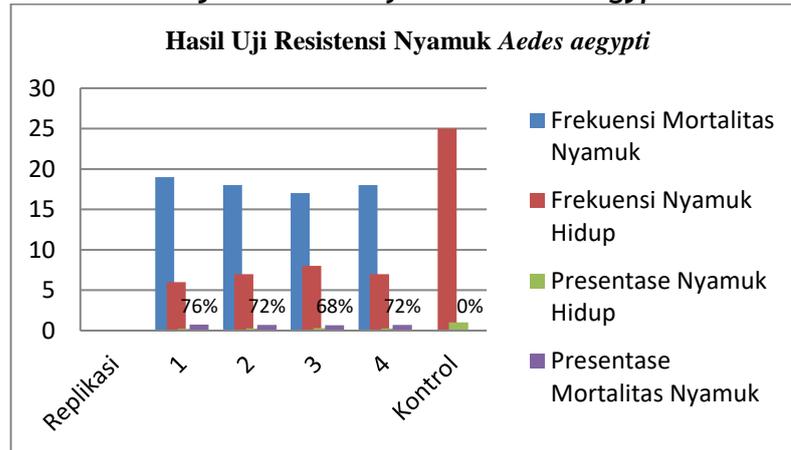
**Tabel 1 Hasil Uji Resistensi Nyamuk *Aedes aegypti* Metode CDC Terhadap Propoxur 12,5 µg/ml**

Replikasi	Frekuensi Mortalitas Nyamuk	Frekuensi Nyamuk Hidup	Presentase Nyamuk Hidup	Presentase Mortalitas Nyamuk
1	19	6	24%	76%
2	18	7	28%	72%
3	17	8	32%	68%
4	18	7	28%	72%
Kontrol	0	25	100%	0%

Status nyamuk dapat dikatakan mengalami resistensi apabila nilai kematian dalam populasi < 90%. Hasil uji resistensi pada sampel 1 (replikasi 1) terdapat 6 ekor nyamuk yang resisten, pada sampel 2 (replikasi 2) terdapat 7 ekor nyamuk yang resisten, pada

sampel 3 (replikasi 3) terdapat 8 ekor nyamuk yang resisten, pada sampel 4 (replikasi 4) terdapat 7 ekor nyamuk yang resisten. Nyamuk kontrol tidak mengalami kematian, setelah dipaparkan dengan aseton, sehingga tidak dikoreksi dengan rumus Abbot.

Gambar 1 Grafik hasil uji resistensi nyamuk *Aedes aegypti* metode CDC



Tabel 2 Hasil Pemeriksaan Kemurnian dan Konsentrasi DNA Menggunakan Nano Spektrofotometer

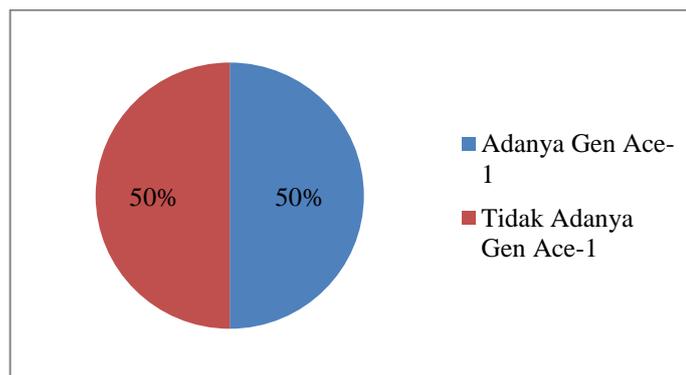
No.	Sampel	Nilai Kemurniaan DNA (A260/A280)	Nilai Konsentrasi DNA (ng/µl)
1.	1	1,951	6,54
2.	2	1,990	13,58
3.	3	1,843	24,20
4.	4	1,962	14,97
5.	Kontrol	1,969	11,86

Tabel 3 Hasil Deteksi Gen *Ace-1* Pada Nyamuk *Aedes Aegypti*

No.	Kode Sampel	Sampel	Nilai CT	Keterangan
1.	A01	1	1,00	Positif
2.	A02	2	N/A	Negatif / Tidak terdeteksi
3.	A03	3	N/A	Negatif / Tidak terdeteksi
4.	A04	4	4,42	Positif
5.	A09	Kontrol	28,3	Positif

Deteksi gen *Ace-1* pada 4 sampel dan 1 kontrol yang sebelumnya telah dilakukan uji resistensi menggunakan metode CDC yang didapatkan 2 diantaranya positif mengalami resistensi terhadap insektisida golongan karbamat dan 2 lainnya negatif tidak mengalami resistensi terhadap insektisida karbamat. Hasil positif didapatkan

#### Gambar 2 Grafik persentase deteksi gen *Ace-1*



Presentase gen *Ace-1* sebanyak 50% atau sebanyak 2 sampel dari 4 sampel yang terdeteksi adanya gen *Ace-1* pada uji resistensi nyamuk *Aedes aegypti* sedangkan 50% lainnya atau sebanyak 2 sampel tidak terdeteksi adanya gen *Ace-1* pada uji resistensi nyamuk *Aedes aegypti*. Sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa dari 4 sampel yang telah dilakukan uji resistensi nyamuk *Aedes aegypti* metode CDC yang terdeteksi adanya gen *Ace-1* sebagai gen penyandi resistensi terhadap insektisida golongan karbamat sebanyak 2 sampel.

#### PEMBAHASAN

Adanya resistensi insektisida berkembang setelah adanya proses seleksi yang berlangsung pada setiap keturunan. Resistensi dapat disebabkan oleh pemberian perlakuan atau aktivitas paparan

Deteksi gen *Ace-1* nyamuk *Aedes aegypti* pada penelitian ini

apabila nilai CT pada sampel tidak melebihi siklus yang telah ditentukan.

Hasil uji deteksi gen *Ace-1* dapat ditampilkan dalam bentuk grafik untuk menunjukkan banyaknya persentase gen *Ace-1* yang telah terdeteksi pada 4 sampel uji nyamuk *Aedes aegypti*

secara terus menerus. Salah satu faktor yang mempengaruhi perkembangan resistensi yaitu tingkat tekanan seleksi yang diterima oleh suatu populasi serangga vektor. Pada kondisi yang sama suatu populasi yang menerima tekanan yang lebih keras akan berkembang menjadi populasi yang resisten dalam waktu yang singkat.

Terjadinya resistensi dipengaruhi beberapa faktor, terutama penggunaan insektisida dalam waktu yang lama (sekitar 2-20 tahun) dan pemakaian dosis yang tidak sesuai dengan standart (Setiawan dkk, 2017). Frekuensi penggunaan insektisida merupakan faktor yang berpengaruh terhadap laju perkembangan resistensi sehingga penggunaan insektisida harus sesuai dengan standart paparan dan dosisnya (Fuadzy H. & Hendri J., 2015).

dilakukan dengan menggunakan metode Realtime PCR dimana hasil

akhir berupa nilai CT (Cycle Threshold) yang menunjukkan jumlah siklus yang diperlukan sinyal fluoresens untuk melewati ambang/threshold. Adapun jumlah siklus pada running sampel untuk deteksi gen *Ace-1* adalah sebesar 35 siklus. Apabila nilai CT yang muncul kurang dari jumlah siklus atau tidak mendekati nilai siklus maka sampel dikatakan positif terdeteksi adanya gen penyandi resistensi insektisida karbamat (*Ace-1*). Dari penelitian yang telah dilakukan, didapatkan jumlah keseluruhan nyamuk yang masih hidup setelah mendapatkan paparan insektisida karbamat selama 30 menit dan diduga nyamuk mengalami resisten pada uji resistensi yaitu berjumlah 53 ekor dengan hasil pada sampel 1 (replikasi 1) terdapat 6 ekor nyamuk, pada sampel 2 (replikasi 2) terdapat 7 ekor nyamuk, pada sampel 3 (replikasi 3) terdapat 8 ekor nyamuk, pada sampel 4 (replikasi 4) terdapat 7 ekor nyamuk. Hasil akhir deteksi gen *Ace-1* menunjukkan dari 4 sampel yang ada diperoleh hasil 2 diantaranya positif dengan nilai yaitu pada sampel 1 (A01) mempunyai nilai CT sebesar 1,00, pada sampel 4 (A04) mempunyai nilai CT sebesar 4,42 sedangkan 2 lainnya negatif yang ditandai dengan munculnya N/A yang berarti Not Available atau tidak tersedia. Pada sampel control ditemukan nilai positif dengan nilai CT sebesar 28,3. Hasil presentase diperoleh sebesar 50% sampel yang terdeteksi adanya

gen *Ace-1* dan 50% sampel lainnya tidak terdeteksi adanya gen *Ace-1*.

Dari data dan sumber yang telah didapatkan mengenai deteksi gen *Ace-1* menggunakan metode PCR di Indonesia masih kurang. Sehingga kedepannya diperlukan banyak pembaharuan penelitian lain mengenai deteksi gen resistensinyamuk *Aedes aegypti* menggunakan metode PCR agar dapat mengoptimalkan usaha monitoring dalam upaya pemberantasan kejadian penyakit DBD.

## KESIMPULAN

Pentingnya upaya peningkatan dalam kewaspadaan lonjakan laju kasus DBD dapat dilakukan dengan berbagai cara. Salah satu yang dapat dilakukan sebagai pemeriksaan gold standart adalah menguji sampel nyamuk *Aedes aegypti* sebagai vektor pembawa penyakit DBD secara molekuler. Deteksi gen *Ace-1* dapat dilakukan untuk mengindikasikan adanya resistensi yang dapat disebabkan oleh penggunaan insektisida golongan karbamat secara berkepanjangan dan tidak disesuaikan dengan dosis. Untuk itu diharapkan kepada masyarakat dapat membantu pemerintah dalam menangani lonjakan laju kasus DBD dengan cara mengurangi penggunaan insektisida kimia secara berlebihan.

## DAFTAR PUSTAKA

Akollo, I. R., Satoto, T. B., & Umniyati, S. R. (2020). Status Resistensi Nyamuk *Aedes aegypti* terhadap Malation dan Mutasi Gen *Ace-1* di Kota Ambon. *Jurnal Vektor*

*Penyakit*, 14(2), 119-128. <https://doi.org/10.22435/vektor.v14i2.2934>  
Alam, B. M. A. (2013) 'Principles of Electronic Nanobiosensors "Improve" the signal for improved selectivity Lysing the cell Mechanics of PCR

- amplification Reducing parasitic signal by tagging', pp. 12-13. <https://nanohub.org/courses/PEN/asset>.
- Betty Nurhayati, S. D. (2017) *Biologi Sel dan Molekuler*. <https://bppsdmk.kemkes.go.id/pusdiksdmk/wpcontent/uploads/2017/11/Biologi-Sel-Dan-Molekuler-SC.pdf>.
- Darwin, A. (2012) 'Model Pengendalian Terpadu Vektor Demam Berdarah Dengue di Kota Salatiga', *jurnal vektor danreservoir penyakit*, p. 5. <https://doi:10.22435/vektora.v5i1Jun.3331.1-6>
- Dewi, R. M. V. (2017) 'Penggunaan Pestisida dan Hubungan terhadap Kejadian Mild Cognitive Impairment (MCI) (Studi Pada Petani Jeruk Di Desa Sukoreno Kecamatan Umbulsari Kabupaten Jember)', *jurnal kesehatan masyarakat*, p. 33. <https://repository.unej.ac.id/handle/123456789/84937>
- Fitri, R. A. & Prasetyo, E. (2021) 'Metode Pcr Portable Kit Untuk Deteksi Wssv Pada Comparison of Conventional Pcr Methods With Portable Kit Pcr Methods for Detection of Wssv in Vannamei Shrimp .', *Jurnal Ruaya*, 9(1), p. 57. <https://doi:10.29406/jr.v9i1.2615>.
- Ghiffari, A., Fatimi, Humairo & Anwar, C. (2013) *Deteksi Resistensi Insektisida Sintetik Piretroid Pada Aedes Aegypti (L.) Strain Palembang Menggunakan Teknik Polymerase Chain Reaction*. <https://ejournal2.litbang.kemkes.go.id/index.php/aspirator/article/view/1692>
- Grisales, N. et al. (2013) 'Temephos Resistance in Aedes aegypti in Colombia Compromises Dengue Vector Control', *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7(9), pp. 7-8. <https://doi:10.1371/journal.pntd.0002438>.
- Hasibuan, E. (2015) 'Peranan Teknik Polymerase Chain Reaction (Pcr) Terhadap Perkembangan Ilmu Pengetahuan', pp. 1-17. <https://docplayer.info/30206883-Peranan-teknik-polymerase-chain-reaction-pcr-terhadap-perkembangan-ilmu-pengetahuan-karya-tulis-ilmiah-oleh.html>.
- Hewajuli, D. A. & Dharmayanti, N. (2014) 'Perkembangan Teknologi Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction dalam Mengidentifikasi Genom Avian Influenza dan Newcastle Diseases Dyah', *Indonesian Bulletin of Animal and Veterinary Sciences*, 24(1), pp. 16-29. <https://doi:10.14334/wartazoa.v24i1.1022>.
- Lubis, Z. H., & Nurfadly, N. (2020). Resistance Test of Aedes aegypti Mosquito Larvae Against Organophosphate Insecticides at Medan Selayang. *Buletin Farmatera*, 5(2), 220-226. [https://journal.umsu.ac.id/index.php/buletin\\_farmatera/article/view/2791](https://journal.umsu.ac.id/index.php/buletin_farmatera/article/view/2791)
- Isnaeni, Ana Pertiwi, & Iriantom, A. & A. (2012) 'Poltekkes Kemenkes Yogyakarta | 9', *Jurnal Kesehatan*, 6(6), pp. 9-33. <https://eprints.poltekkesjogja.ac.id/1134/4/4>. Chapter 2.pdf.
- Khoirullisani, N. (2018) 'Uji Resistensi Insektisida Malathion Dengan Metode Susceptibility Test Dan Biokimia Pada Populasi

- Nyamuk *Aedes*', *pengendalian vektor penyakit*, pp. 8-11. [https://www.academia.edu/43707692/Uji\\_Resistensi\\_Insektisida\\_Malathion\\_Dengan\\_Metode\\_Susceptibility\\_Test\\_Dan\\_Biokimia\\_Pada\\_Populasi\\_Nyamuk\\_Aedes\\_Sp\\_Di\\_Kabupaten\\_Banyumas](https://www.academia.edu/43707692/Uji_Resistensi_Insektisida_Malathion_Dengan_Metode_Susceptibility_Test_Dan_Biokimia_Pada_Populasi_Nyamuk_Aedes_Sp_Di_Kabupaten_Banyumas).
- Fitriani, L. (2019). *Deteksi Resistensi Aedes aegypti Terhadap Sipermetrin Menggunakan Teknik Polymerase Chain Reaction (Pcr) di Ambarawa Kabupaten Semarang Tahun 2019* (Doctoral dissertation, Universitas Negeri Semarang). <https://lib.unnes.ac.id/35758/>.
- Mustafa, H., Rachmawati, I. &Udin, Y. (2017) 'Pengukuran Konsentrasi dan Kemurnian DNA Genom Nyamuk *Anopheles barbirostris*', *Jurnal Vektor Penyakit*, 10(1), pp. 7-10. <https://doi.org/10.22435/vektor.v10i1.6251>.
- Nurfadly. (2009) *Deteksi dan Penentuan Serotipe Virus Dengue Tipe 1 dari Nyamuk Aedes aegypti*. <https://repositori.usu.ac.id/handle/123456789/36470>
- Nurwidayati, A. (2016) 'Aplikasi Teknik Diagnosis Schistosomiasis Berbasis Molekuler', *Jurnal Vektor Penyakit*, 9(1), pp. 29-35. <https://doi.org/10.22435/vektor.v9i1.5042>.
- Royan. (2020) 'Optimasi Amplifikasi DNA Menggunakan Metode Polymerase Chain Reaction (Pcr) Untuk Karakterisasi Gen Light Chain (Lc) Trastuzumab Dalam Sel Chinese Hamster Ovary (Cho)', (Lc), pp. 29-33. <https://dspace.uui.ac.id/handle/123456789/23700>
- Syaputra. (2019) 'Uji Resistensi Larva Nyamuk *Aedes aegypti* Terhadap Insektisida Golongan Karbamat', pp. 13-15. <https://jurnal.umsu.ac.id/index.php/AMJ/article/view/4669>
- Utami, P. D. (2020) 'Pengendalian Nyamuk *Aedes aegypti* Demam Berdarah Dengue Aegepty Sebagai vektor Malathion Dan Temephos Dengan Insektisida', *Hang Tuah Medical Journal*, 5 No.2, pp. 49-50. <https://dspace.hangtuah.ac.id:8080/xmlui/handle/dx/699>
- Muhittin Yilmaz, Cem Ozic & İlhami Gok. (2012). Principles of Nucleic Acid Separation by Agarose Gel Electrophoresis, Gel Electrophoresis - Principles and Basics, Dr. Sameh Magdeldin (Ed.), ISBN: 978-953-51-0458-2, InTech. <https://www.intechopen.com/books/gel-electrophoresis-principles-and-basics/principles-of-nucleic-acid-separation-by-agarose-gel-electrophoresis>
- CDC. (2010). Guideline for Evaluating Insecticide Resistance in Vectors Using the CDC Bottle Bioassay;1-28.
- Mashuni et al. (2018) *Green Pestisida Berbasis Limbah Organik. 1<sup>st</sup>edn*. Yogyakarta : Buana Grafika
- Rahayu, D. F. & Ustiawan, A. (2013) 'Identifikasi *Aedes aegypti* dan *Aedes Albopictus*', *Balaba: Jurnal Litbang Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang Banjarnegara*, 9(1), pp. 7-10. <https://ejournal2.litbang.kemkes.go.id/index.php/blb/article/download/691/271>.
- Rahardianti, R., & Nur, E. M. (2017). Akurasi metode real

- PCR untuk analisa ekspresi gen PmVRP15. *Prosiding Pertemuan Teknis Teknisi Litkayasa Lingkup BBPBAP Jepara*, 1-166. [https://kkp.go.id/ancomponent/media/uploadgambarpendukung/DJPB\\_BBPBAP%20JEPARA/Prosiding%20Pertemuan%20Teknis%20Teknisi%20Litkayasa%20Lingkup%20BBPBAP%20Jepara%20Tahun%202017.pdf](https://kkp.go.id/ancomponent/media/uploadgambarpendukung/DJPB_BBPBAP%20JEPARA/Prosiding%20Pertemuan%20Teknis%20Teknisi%20Litkayasa%20Lingkup%20BBPBAP%20Jepara%20Tahun%202017.pdf).
- Ferlianti, R. (2012). Optimalisasi real time PCR untuk diagnosis filariasis bancrofti pada sediaan hapus darah tebal. *Jurnal Kedokteran YARSI*, 20(1), 14-22. <https://academicjournal.yarsi.ac.id/index.php/jurnal-fk-yarsi/article/view/154>
- Hikmatyar, M. F., & Royani, J. I. (2015). Isolasi Dan Amplifikasi Dna Keladi Tikus (*Thyponium Flagelliform*) Untuk Identifikasi Keragaman Genetik. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBI)*, 2(2), 42-48. [https://doi : 10.29122/jbbi.v2i2.507](https://doi.org/10.29122/jbbi.v2i2.507)
- Fuadzy, H., & Hendri, J. (2015). Indeks entomologi dan kerentanan larva *Aedes aegypti* terhadap temefos di Kelurahan Karsamenak Kecamatan Kawalu Kota Tasikmalaya. *Vektora: Jurnal Vektor dan Reservoir Penyakit*, 7(2), 57-64. <https://www.neliti.com/publications/126989/indeks-entomologi-dan-kerentanan-larva-aedes-aegypti-terhadap-temefos-di-kelurahan>