

PENGARUH *Ethylenediaminetetraacetic Acid* (EDTA) TERHADAP PRODUKTIVITAS DAN PERKEMBANGAN *Aedes aegypti* DENGAN MEMBRAN BLOOD FEEDING

Riyani Setiyaningsih[✉], Mujiyono, Dimas Bagus Wicaksono Putro, Lasmiasi, Ayu Pradipta Pratiwi

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit

Jl. Hasanudin no. 123 Salatiga 50721, Jawa Tengah, Indonesia

Email: riyanisetia@gmail.com

THE EFFECT OF Ethylenediamine Tetraacetic Acid (EDTA) ON PRODUCTIVITY AND DEVELOPMENT OF *Aedes aegypti* WITH MEMBRAN BLOOD FEEDING

Naskah masuk : 15 Maret 2017 Revisi I : 17 Maret 2017 Revisi II : 16 Mei 2017 Naskah Diterima : 31 Mei 2017

Abstrak

Membran blood feeding merupakan salah satu aplikasi pemberian darah pada nyamuk sebagai ganti pemberian darah marmut. Dalam aplikasi membran blood feeding digunakan sistem hemotex. Ethylenediaminetetraacetic Acid (EDTA) merupakan salah satu antikoagulan yang dapat digunakan untuk proses pencegahan pembekuan darah. Belum banyak diketahui pengaruh variasi dosis EDTA terhadap total telur, kematian nyamuk dan perkembangan stadium pradewasa Ae. aegypti. Nyamuk diberi darah sapi yang telah diberi EDTA dengan dosis 6, 7 dan 8 µl/ml. Sebagai kontrol nyamuk yang diberikan darah marmut. Parameter yang diamati adalah total telur, fertilitas telur, kematian jentik, kematian pupa, kegagalan pupa jadi nyamuk dan kematian nyamuk. Berdasarkan analisa ada pengaruh variasi dosis EDTA terhadap total telur yang dihasilkan. Total telur yang dihasilkan pada kontrol dan dosis EDTA 6,7 dan 8 µl/ml adalah 3210, 1310, 1437 dan 1529 butir. Variasi dosis EDTA tidak berpengaruh terhadap fertilitas telur, kemunculan pupa, kematian jentik, kematian pupa, kegagalan pupa jadi nyamuk dan kematian nyamuk.

Kata kunci: *membran blood feeding, fertilitas, EDTA*

Abstract

Membrane blood feeding is an alternatif of mosquito blood feeding method to substiute guinea pig blood. Hemotex system is used for this method. Ethylenediaminetetraacetic Acid (EDTA) anticoagulant is chemical compound used to prevent the blood clotting process. The effectivity of EDTA applied in various doses on the total egg, mortality rate of mosquito and remains a question. Mosquitoes were fed with various dose of cow's blood i.e. 6, 7 and 8 mL / ml. The blood of guinea pig was used as a control. As mosquito control given guinea pig blood. Parameters measured were total egg, egg fertility, pupae appearance, mortality of larvae and pupae, , the metamorphosis failure from pupae to adult mosquitoes and mortality of adut mosquito. The results demonstrated that variation dose of EDTA had positive colleralition to total eggs produced. The total number of eggs produced was 3210, 1310, 1437 and 1529 grains for control, 6, 7 and 8 µl / ml of EDTA dose, respectively. . However, the variation of EDTA dose did not affect the fertility of eggs, mortality of larvae and pupae, the metamorphosis failure from pupae to adult mosquitoes and mortality of adult mosquitoes.

Keywords : *membrane blood feeding, fertility, EDTA*

PENDAHULUAN

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit (B2P2VRP) Salatiga merupakan institusi yang memiliki tupoksi melaksanakan perencanaan, koordinasi, pelaksanaan dan evaluasi penelitian dan pengembangan dalam penanggulangan penyakit tular vektor dan reservoir, yang baru dan yang akan timbul kembali. Misi B2P2VRP adalah menjamin mutu litbang untuk pengendalian penyakit tular vektor dan reservoir, mendukung pelaksanaan program, pelayanan uji laboratorium dan ikut dalam pemberdayaan masyarakat, meningkatkan kajian, evaluasi dan diseminasi informasi hasil litbang dan menciptakan lingkungan kerja yang kondusif bagi SDM untuk berkarya secara profesional (B2P2VRP, 2014).

Pelayanan uji laboratorium merupakan salah satu misi B2P2VRP yang membutuhkan kolonisasi nyamuk yang *suceptible* dalam jumlah banyak dan berkelanjutan. Dalam proses kolonisasi nyamuk dibutuhkan darah sebagai sumber nutrisi. Pemberian darah selain berfungsi sebagai sumber nutrisi juga digunakan untuk sumber energi dan proses pemasakan telur (Gulia-Nuss et al., 2015; Apperson et al., 2004). Darah marmut digunakan sebagai sumber darah nyamuk di laboratorium. *Aedes aegypti* (*Ae.aegypti*) merupakan salah satu spesies nyamuk yang di kolonisasi di Laboratorium B2P2VRP Salatiga (B2P2VRP, 2012).

Kebutuhan nyamuk dalam jumlah besar berpengaruh pada kebutuhan marmut yang digunakan sebagai sumber darah. Apabila jumlah marmut terbatas menyebabkan frekuensi marmut sebagai sumber darah akan semakin besar, sehingga memperbesar peluang kematian marmut akibat anemia. Secara etika hal ini bertentangan dengan *animal welfare*. Berdasarkan latar belakang tersebut perlu dilakukan uji coba penggunaan pakan darah selain dengan darah marmut. Salah satu metode yang akan dikembangkan adalah *membran feeding* (Lyski et al., 2011).

Pada prinsipnya penggunaan *membran blood feeding* menggunakan sistem *hemotex* dan lempengan yang digunakan untuk menampung darah. Darah dapat diambil langsung dari hewan yang masih hidup tetapi dapat juga dari hewan yang dalam proses penyembelihan (Diallo et al., 2008; Luo, 2014). Dalam *membran blood feeding* darah ditambahkan zat koagulan untuk mencegah terjadinya pembekuan. Salah satu contoh koagulan yang digunakan adalah *ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA) (Mohri et al., 2007). Dalam penelitian ini digunakan *hemotex* yang telah dimodifikasi dari beberapa jenis *hemotex* yang pernah digunakan sehingga menjadi bentuk yang sederhana berupa thermostat bersuhu 39 °C yang dihubungkan dengan lempengan

segi empat sebagai penghantar panas (Friend & Smith, 1987; Benzon & Apperson, 1987; Luo, 2014).

Keberhasilan produktivitas nyamuk dapat dilihat dari parameter kematian nyamuk, jumlah telur, sterilitas telur dan perkembangan stadium pradewasa. Parameter keberhasilan perkembangan stadium pradewasa meliputi kematian jentik, kematian pupa dan kegagalan pupa menjadi nyamuk. Belum banyak diketahui data tentang pengaruh darah yang telah diberi EDTA terhadap produktivitas nyamuk dan perkembangan stadium pradewasa. Berdasarkan latar belakang tersebut penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh EDTA terhadap produktivitas nyamuk dan perkembangan stadium pradewasa *Ae. aegypti* dengan *membran blood feeding*, serta pada dosis EDTA berapa yang dapat meningkatkan produktivitas *Ae. aegypti* tertinggi.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit Salatiga pada tahun 2015.

Rancangan penelitian ini adalah eksperimen murni karena semua variabel dapat dikendalikan (Sastroasmoro, Sudigdo dan Ismail, 2002; Sudjana, 2005).

Populasi dan sampel penelitian

a. Populasi penelitian

Populasi penelitian adalah nyamuk *Ae.aegypti* hasil kolonisasi di Laboratorium B2P2VRP Salatiga.

b. Sampel penelitian

Sampel penelitian adalah nyamuk *Ae.aegypti* umur 3-5 hari yang telah diberikan darah dengan variasi dosis EDTA.

c. Analisa data

Pengaruh variasi dosis EDTA terhadap produktivitas dan perkembangan stadium pradewasa *Ae.aegypti* dilakukan dengan menggunakan uji anova dan gambaran secara umum dilakukan secara deskriptif.

Bahan dan alat

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah *hemotex* yang telah dimodifikasi, termometer air, *termohyrometer*, pengatur suhu, nampan 36x27 cm, pipet, *counter*, dan kandang *bagdoorm*, suntikan, gelas ukur, lempengan aluminium, termometer air. Sedangkan bahan penelitian adalah nyamuk *Ae. aegypti*, *dog food*, kertas *whatman* no 3, gelas plastik, darah sapi, EDTA dan parafilm.

Cara Kerja

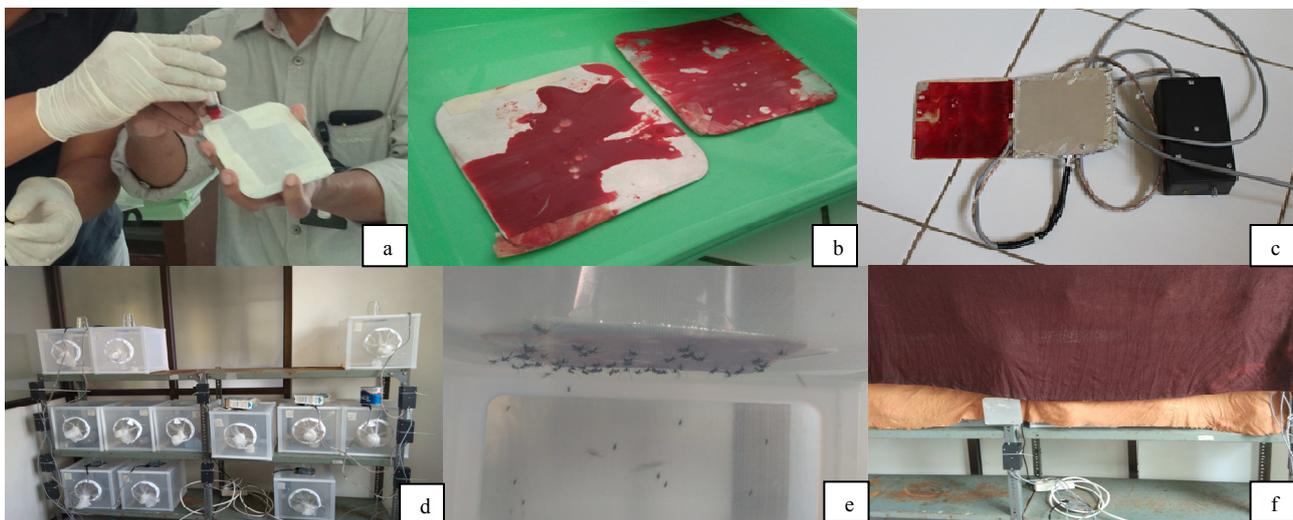
Persiapan uji coba diawali dengan memasukkan sejumlah pupa di dalam kandang nyamuk. Pupa yang telah muncul menjadi nyamuk kemudian diberi larutan gula 10%. Umur nyamuk betina yang digunakan untuk uji coba *membran feeding* adalah 3-5 hari.

Dilakukan penentuan dosis EDTA pada darah sapi yang akan digunakan untuk *membran feeding Ae. aegypti*. Jenis EDTA yang digunakan adalah EDTA cair dengan konsentrasi 10%. Dosis yang diujicobakan adalah 4 μ /ml, 5 μ /ml, 6 μ /ml, 7 μ /ml dan 8 μ /ml. EDTA dimasukkan dalam botol ukur masing-masing sebanyak 4 μ /ml, 5 μ /ml, 6 μ /ml, 7 μ /ml dan 8 μ /ml kemudian diisi dengan darah sapi yang diambil dari Rumah Potong Hewan (RPH) Kota Salatiga. Dosis EDTA yang digunakan adalah dosis EDTA yang tidak menyebabkan penggumpalan pada darah sapi. Sebagai kontrol digunakan darah yang tidak mengandung EDTA yaitu marmut. Penggunaan marmut sebagai kontrol karena di laboratorium pemberian darah pada nyamuk menggunakan marmut.

Variasi dosis EDTA yang telah diperoleh diujicobakan pada nyamuk *Ae. aegypti* betina berumur 3-5 hari yang telah dimasukkan di dalam kandang. Banyaknya nyamuk setiap kandang adalah 50 ekor. Di dalam kandang nyamuk diberikan larutan gula 10% dan tempat telur nyamuk yang terbuat gelas plastik yang telah diisi larutan gula 10% dengan bagian atasnya

di tutup dengan kertas saring secara melingkar. Untuk menjaga kelembaban kandang bagian luar kandang ditutup dengan handuk basah. Kelembaban ruangan selama penelitian diukur dengan menggunakan *termohigrometer*.

Pemberian darah dengan *membran feeding* pada variasi dosis EDTA dilakukan dengan cara darah disuntikkan pada plat yang telah dibungkus dengan parafilm. Volume darah yang disuntikkan adalah 30 ml/ plat. Plat yang telah diisi darah pada masing-masing konsentrasi EDTA diberikan pada nyamuk dengan cara diletakkan dibagian atas kandang nyamuk. Untuk menjaga kondisi darah tetap terjaga pada suhu normal tubuh sapi (39 °C) bagian atas lempengan diletakkan *thermostat* dengan suhu optimalnya sebesar 39 °C. *Thermostat* terdiri dari lempengan yang dililit oleh kumparan yang dialiri aliran listrik diatur agar suhu optimalnya sebesar 39 °C. Pemberian darah kepada nyamuk dilakukan selama kurang lebih dua jam. Sebagai kontrol digunakan darah marmut dengan cara memasukkan marmut yang telah dicukur bulunya di dalam kandang nyamuk. Pemberian kontrol dengan darah marmut dengan pertimbangan bahwa darah marmut yang biasa digunakan untuk sumber darah nyamuk di laboratorium pemeliharaan nyamuk di B2P2VRP Salatiga. Pada percobaan variasi dosis EDTA pada *membran feeding* dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali (Gambar 1).



Gambar 1. Proses aplikasi *membran blood feeding* dengan modifikasi *hemotex* pada variasi konsentrasi EDTA pada *Ae. aegypti*. : a. Proses memasukkan darah sapi ke dalam plat, b. Plat yang telah diisi dengan darah sapi, c. *Hemotex* yang terdiri dari *thermostat* dan lempengan berisi darah, d. Proses perlakuan variasi dosis EDTA, e. *Ae. aegypti* di kurungan nyamuk menghisap darah sapi yang telah dimasukkan di dalam plat, f. Pemberian handuk basah untuk menjaga kelembaban.

Telur yang dihasilkan setelah beberapa hari pemberian darah diambil dan dihitung total telur yang dihasilkan pada masing-masing dosis EDTA kemudian ditetaskan. Telur yang telah menetas menjadi jentik kemudian dihitung untuk mendapatkan nilai *fertilitas* telur pada masing-masing konsentrasi EDTA. Jentik dipelihara di nampan dengan kepadatan 500 ekor/nampan sampai menjadi pupa. Selama proses pemeliharaan jentik diberikan makanan *dog food* sesuai dengan besar instar jentik. Pada proses pemeliharaan jentik dilakukan penghitungan presentase kematian jentik, kematian pupa dan kegagalan pupa jadi nyamuk. Parameter lain yang diukur adalah presentase kematian nyamuk pada masing-masing dosis EDTA.

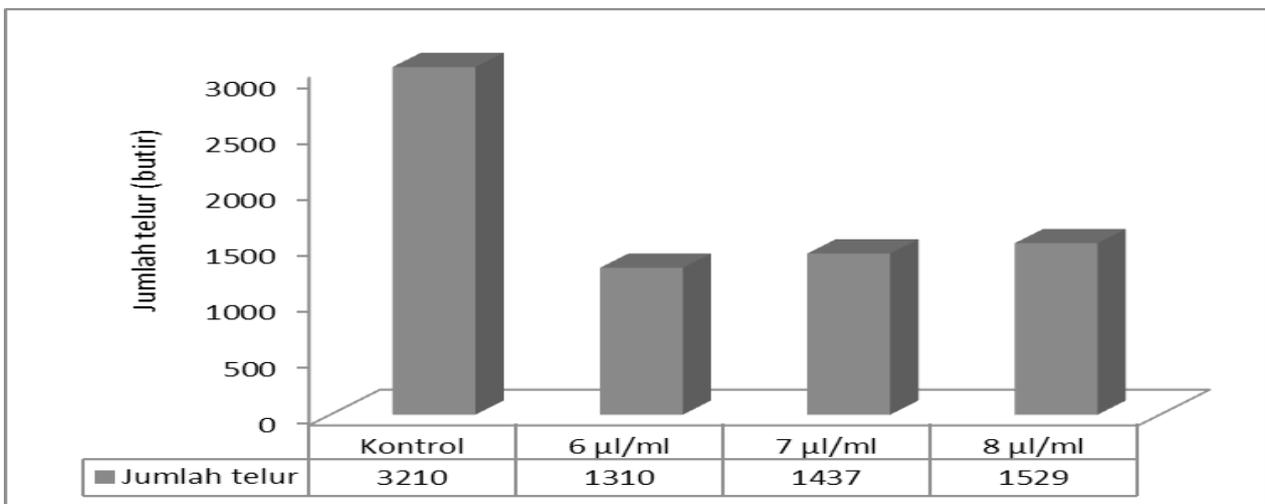
HASIL

Pada hasil uji coba penentuan dosis EDTA dengan darah sapi yang akan digunakan dalam uji coba *membran feeding* dengan modifikasi *hemotex* diperoleh dosis 6 $\mu\text{l/ml}$, 7 $\mu\text{l/ml}$ dan 8 $\mu\text{l/ml}$ merupakan dosis yang dapat digunakan untuk aplikasi *membran feeding*. Pada dosis 4 $\mu\text{l/ml}$ dan 5 $\mu\text{l/ml}$ tidak bisa digunakan karena mengalami

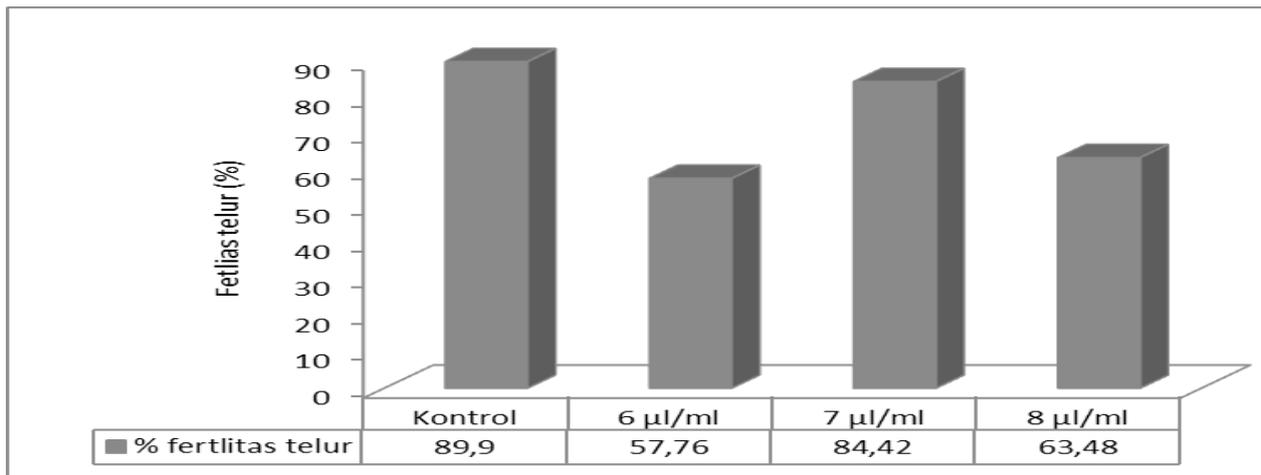
proses pembekuan ketika terjadi percampuran antara EDTA dan darah sapi sehingga tidak memungkinkan untuk dilanjutkan pada uji coba *membran feeding*.

Terdapat kecenderungan terjadi peningkatan jumlah total telur dengan meningkatnya konsentrasi EDTA dalam darah sapi. Pada populasi nyamuk sebanyak 50 ekor tiap kandang rata-rata dihasilkan telur pada konsentrasi 6 $\mu\text{l/ml}$, 7 $\mu\text{l/ml}$ dan 8 $\mu\text{l/ml}$ adalah 1310, 1437 dan 1529 butir telur. Pada kontrol dihasilkan produktifitas telur yang lebih besar yaitu 3210 butir telur. Dengan demikian rata-rata produksi telur tiap ekor nyamuk pada kontrol, konsentrasi EDTA 6 $\mu\text{l/ml}$, 7 $\mu\text{l/ml}$ dan 8 $\mu\text{l/ml}$ adalah 64,2, 26,2, 28,74 dan 30,58 butir (Gambar 2).

Variasi dosis EDTA tidak berpengaruh terhadap fertilitas telur *Ae. aegypti*. Secara keseluruhan fertilitas telur tertinggi terjadi pada konsentrasi EDTA 7 $\mu\text{l/ml}$ dengan fertilitas telur 84,42%. Pada konsentrasi 6 $\mu\text{l/ml}$ dan 8 $\mu\text{l/ml}$ cenderung memiliki fertilitas telur yang lebih rendah yaitu 57,76% dan 63,48%. Sedangkan fertilitas telur pada kontrol adalah 89,9% (Gambar 3).



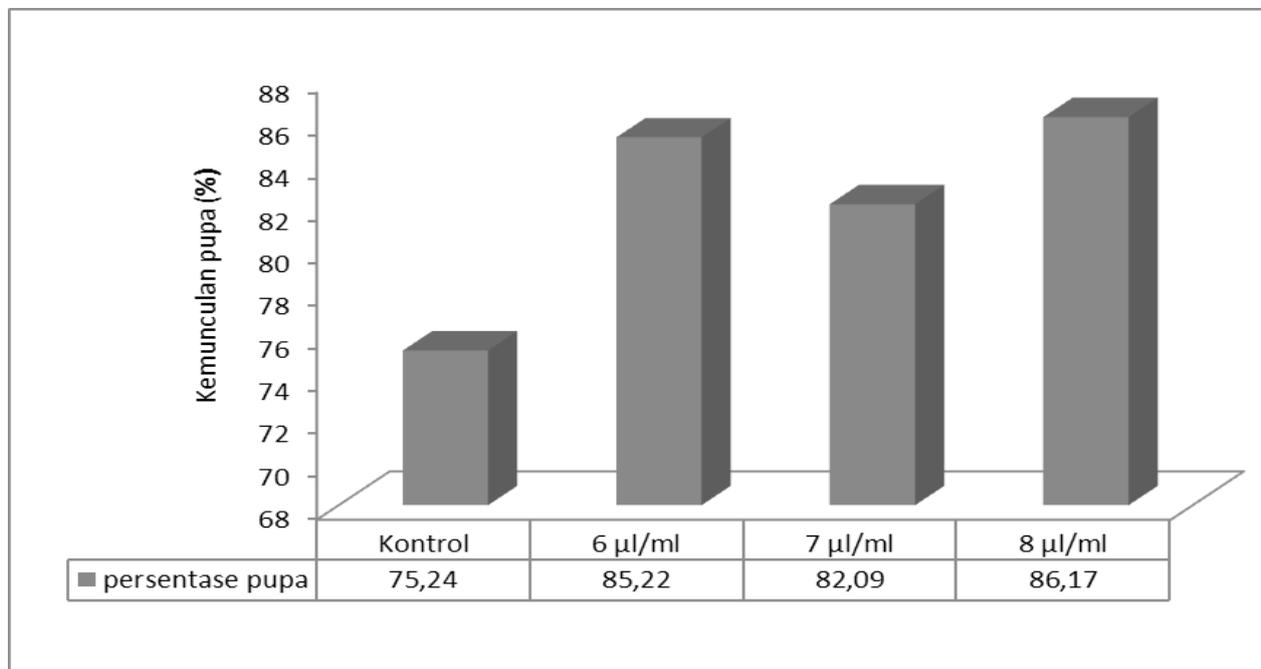
Gambar 2. Jumlah telur yang dihasilkan pada berbagai variasi konsentrasi EDTA dosis 6 $\mu\text{l/ml}$, 7 $\mu\text{l/ml}$, 8 $\mu\text{l/ml}$ dan kontrol.



Gambar 3. Presentase fertilitas telur pada berbagai konsentrasi EDTA dosis 6 µl/, 7 µl/ml, 8 µl/ml dan kontrol.

Presentase munculnya pupa nyamuk pada masing-masing dosis EDTA pada darah tidak ada perbedaan. Pada kontrol 75,24% jentik yang dipelihara menjadi pupa. Sedangkan pada konsentrasi EDTA 6 µl/ml, 7µl/ml dan 8µl/ml masing-masing presentase pupa adalah 85,22%, 82,09% dan 86,17% (Gambar 4).

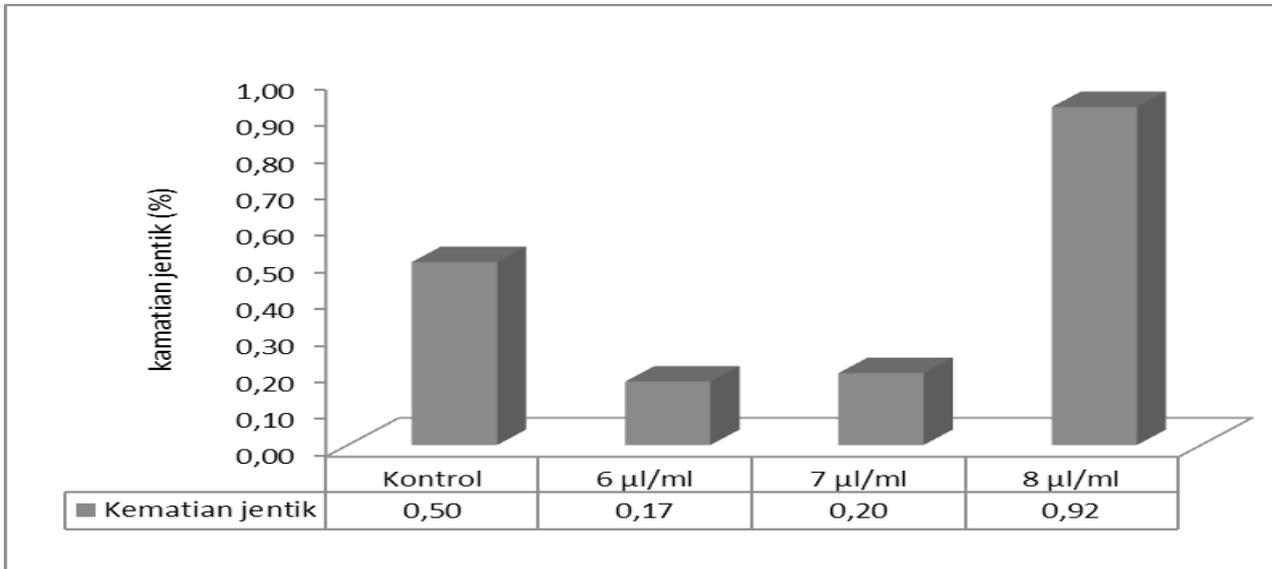
Pada kematian jentik dan pupa saat proses pemeliharaan jentik tidak terdapat perbedaan pada variasi dosis EDTA. Pada kontrol kematian jentik 0,50%, sedangkan pada konsentrasi EDTA 6 µl/ml, 7µl/ml dan 8µl/ml sebesar 0,17%, 0,20% dan 0,92% (Gambar 5). Kematian pupa pada kontrol sebesar 2,47%, sedangkan



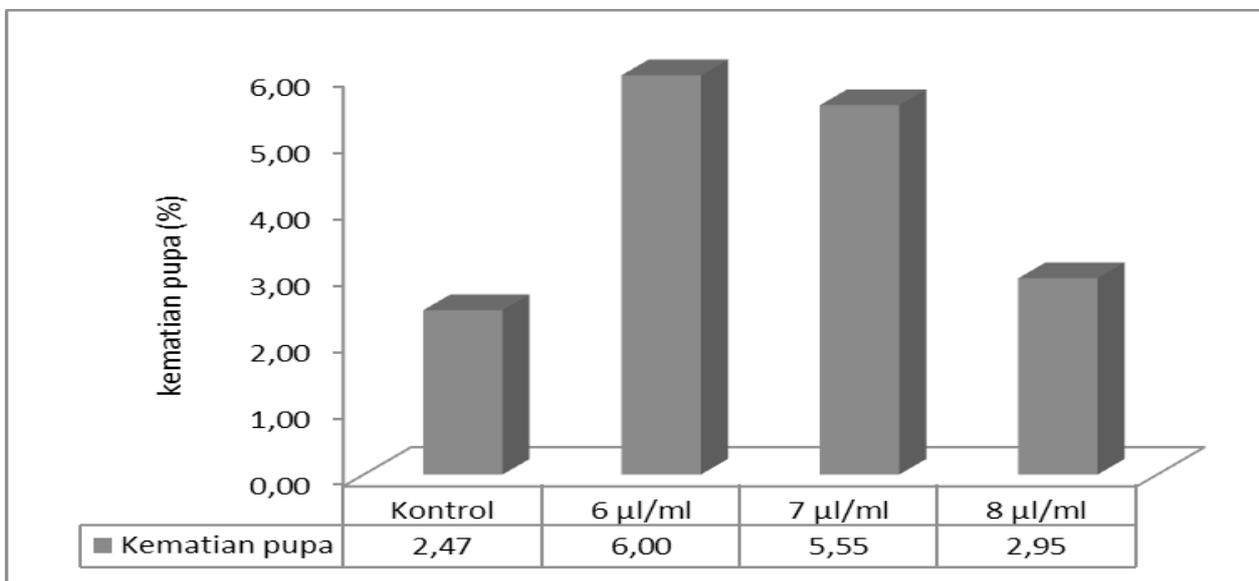
Gambar 4. Presentase kemunculan pupa *Ae. aegypti* pada berbagai konsentrasi EDTA dosis 6 µl/, 7 µl/ml, 8 µl/ml dan kontrol.

kematian pupa pada darah dengan konsentrasi EDTA 6 µl/ml, 7µl/ml dan 8µl/ml adalah 6%, 5,55%, dan 2,95% (Gambar 6). Presentase kematian nyamuk juga

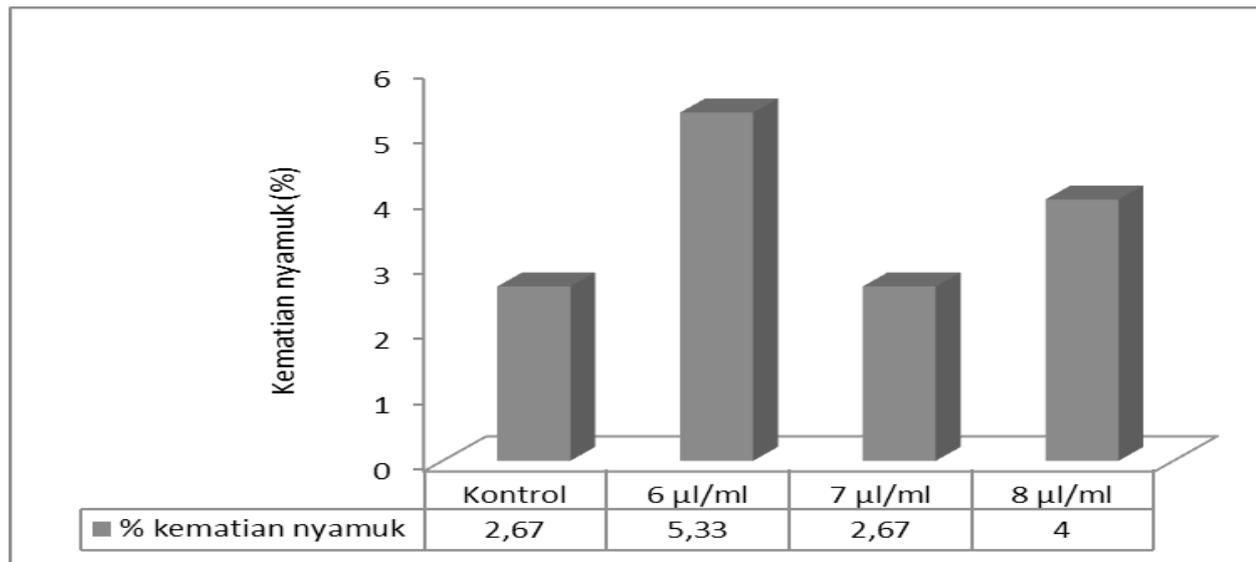
tidak terjadi perbedaan. Pada kontrol presentase kematian nyamuk adalah 2,67%, sedangkan pada konsentrasi 6 µl/ml, 7µl/ml dan 8µl/ml 5,33%, 2,67% dan 4% (Gambar 7).



Gambar 5. Presentase kematian jentik *Ae. aegypti* pada berbagai konsentrasi EDTA dosis 6 µl/, 7 µl/ml, 8 µl/ml dan kontrol.



Gambar 6. Presentase kematian pupa *Ae. aegypti* pada berbagai konsentrasi EDTA dosis 6 µl/, 7 µl/ml, 8 µl/ml dan kontrol.



Gambar 7. Presentase kematian nyamuk *Ae. aegypti* pada berbagai konsentrasi EDTA dosis 6 µl/, 7 µl/ml, 8 µl/ml dan kontrol.

Berdasarkan uji anova ada pengaruh variasi EDTA terhadap total telur *Ae.aegypti* dengan nilai $p=0,036$. Variasi dosis EDTA tidak berpengaruh terhadap fertilitas telur ($p=0,057$), sterilitas telur ($p=0,057$), kematian pupa ($p=0,162$), dan kematian nyamuk ($p=0,627$). Variasi dosis EDTA juga tidak berpengaruh terhadap kematian jentik dan kegagalan pupa menjadi nyamuk (Tabel 1).

(AST) menjadi serum (Mohri *et al.*, 2007). Rendahnya total telur yang dihasilkan pada nyamuk yang menghisap darah sapi yang telah diberi EDTA juga bisa disebabkan karena nyamuk *Ae. aegypti* masih beradaptasi dengan darah yang mengandung EDTA. Berdasarkan penelitian nyamuk yang mengkonsumsi darah yang mengandung EDTA pada generasi pertama produksi telur rata-rata

Tabel 1. Analisa uji beda variasi dosis EDTA terhadap produktivitas dan perkembangan stadium pradewasa *Ae. aegypti*.

No	Parameter	Dosis µl/ml			
		6	7	8	Kontrol
1	Total telur	1310 ^a	1437 ^a	1529 ^a	3210 ^a
2	Fertilitas telur	57,76% ^b	84,42% ^b	63,48% ^b	89,90% ^b
3	Kemunculan pupa	85,22% ^b	82,09% ^b	82,09% ^b	75,24% ^b
4	Kematian jentik	0,17% ^b	0,20% ^b	0,92% ^b	0,50% ^b
5	Kematian pupa	6% ^b	5,55% ^b	2,95% ^b	2,47% ^b
6	Presentase kematian nyamuk	5,33% ^b	2,67% ^b	4% ^b	2,67% ^b

Keterangan:

a : ada perbedaan

b : tidak ada perbedaan

PEMBAHASAN

Variasi dosis EDTA berpengaruh terhadap total telur yang dihasilkan *Aedes aegypti*. Pemberian EDTA cenderung menurunkan jumlah telur yang dihasilkan hal ini disebabkan penggunaan EDTA sebagai antikoagulan dapat menyebabkan penurunan jumlah urea, creatin, total protein dan aktifitas aspartat Amono transferase

akan menurun dibandingkan jika mengkonsumsi darah yang tidak mengandung EDTA. Akan tetapi generasi selanjutnya pada generasi ke empat proses produksi telur akan kembali normal (Biomedicine, 2012). Jumlah telur yang dihasilkan pada saat mengkonsumsi darah tanpa EDTA cenderung lebih tinggi jika dibandingkan dengan diberikan EDTA. Secara umum nyamuk *Ae. aegypti*

dapat menghasilkan telur 50 sampai 200 butir telur setiap bertelur (Clement, 1963; Mello *et al.*, 2009).

Produksi telur juga dipengaruhi oleh jenis darah yang dikonsumsi oleh nyamuk. Pada *Cx. theileri* mempunyai kemampuan reproduksi lebih tinggi ketika menghisap darah ayam jika dibandingkan darah kerbau atau manusia. Hal ini juga terjadi pada *Culex pipiens quinquefasciatus* (Masungi *et al.*, 2008; Richards *et al.*, 2012). Produksi telur nyamuk yang menghisap darah ayam lebih tinggi karena darah ayam mengandung *nucleat blood sell* yang diduga mengandung banyak nutrisi, sedangkan pada mamalia tidak mengandung *nucleat blood sell*. Hal ini berpengaruh pada perbedaan energi yang dibutuhkan. Energi digunakan untuk sekresi enzim, metabolisme komponen darah, ekskresi senyawa toksik yang dihasilkan, panas pada saat proses pengambilan darah (Demirci *et al.*, 2014). Jika nutrisi darah yang dihisap pada sumber darah yang berbeda memiliki kandungan yang hampir sama maka darah tidak bisa digunakan sebagai sumber energi untuk pencernaan. Pencernaan darah dibutuhkan energi lebih banyak. Berdasarkan penelitian *Cx. tarsalis* membutuhkan darah lebih banyak untuk proses pencernaan jika dibandingkan dengan ditambah konsumsi larutan gula (Gray & Bradley, 2003).

Darah dibutuhkan nyamuk untuk proses reproduksi. Protein dalam darah digunakan untuk proses pemasakan telur, sehingga kadar protein yang berkurang dapat berpengaruh terhadap penurunan jumlah telur yang dihasilkan (Taylor & Hurd, 2001; Richards *et al.*, 2012) Asam amino dalam *erythrosit* dan protein plasma dalam darah dicerna menjadi *york* protein untuk memproduksi telur. Pada kontrol jumlah telur yang dihasilkan lebih banyak karena tidak terdapat penurunan kadar protein dalam darah karena tidak ada penambahan EDTA.

Produktivitas telur nyamuk juga dipengaruhi oleh volume darah yang dihisap. Semakin banyak darah yang dihisap memperbesar peluang jumlah telur yang dihasilkan. Selain itu jenis spesies nyamuk juga berpengaruh terhadap produktivitas telur (Clement, 1963). Proses perkembangan stadium pradewasa juga berpengaruh terhadap kemampuan reproduksi nyamuk. Apabila pada proses perkembangan stadium pradewasa jentik nyamuk cukup mendapat nutrisi dan tidak banyak terjadi kompetisi akan dihasilkan nyamuk yang secara morfologi lebih besar sehingga kemampuan menghisap darah lebih besar (McCann *et al.*, 2010). Faktor lain yang berpengaruh terhadap perkembangan stadium pradewasa nyamuk adalah suhu dan kelembaban (Clement, 1963). Secara umum nyamuk *Ae. aegypti* dapat bertelur sebanyak 50-200 butir setiap bertelur (Clement, 1963; Mello *et al.*, 2009).

Variasi dosis EDTA tidak berpengaruh terhadap fertilitas telur. Penurunan kadar protein dalam darah karena pemberian EDTA tidak berpengaruh terhadap fertilitas telur. Fertilitas telur cenderung dipengaruhi oleh keberhasilan pertemuan sperma nyamuk dengan sel telur ketika proses pembuahan. Proses pembuahan sel telur terjadi ketika telur akan dikeluarkan. (Degner & Harrington, 2016; Shaw *et al.*, 2014). Secara genetik tidak ada pengaruh panjang sperma dengan kemampuan reproduksi nyamuk. Pada nyamuk jantan sperma yang ukurannya pendek akan mempercepat proses pembuahan (Voordouw *et al.*, 2008)

Dosis EDTA tidak berpengaruh terhadap perkembangan stadium pradewasa *Ae. aegypti*. Perkembangan stadium pradewasa dapat dilihat dari presentase kematian jentik, kematian pupa dan kegagalan pupa jadi nyamuk. Perkembangan stadium pradewasa dipengaruhi oleh kondisi lingkungan seperti suhu dan kelembaban. Selain itu juga dipengaruhi oleh nutrisi, kepadatan jentik di alam dan ada tidaknya predator (Munga *et al.*, 2013). Kematian nyamuk atau umur nyamuk dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan perkembangan selama stadium pradewasa (Ariani *et al.*, 2015).

Tidak adanya pengaruh pemberian EDTA pada fertilitas telur yang dihasilkan dan perkembangan stadium pradewasanya mengindikasikan bahwa aplikasi *membran blood feeding* dengan darah sapi yang diberikan EDTA dapat diaplikasikan di insektarium untuk pemeliharaan nyamuk sebagai pengganti marmut. Hal ini berarti tindakan *animal wale fare* di insektarium dapat dilakukan. Akan tetapi untuk digunakan lebih lanjut untuk efektifitas pemakaian darah yang telah diberi EDTA perlu dipelajari lebih lanjut agar diperoleh hasil yang lebih maksimal.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Pemberian variasi dosis EDTA 6 µl/ml, 7 µl/ml dan 8 µl/ml pada darah sapi untuk membran *blood feeding* menghasilkan jumlah telur 1310 ekor, 1437 butir, dan 1529 butir per 50 ekor nyamuk. Hasil analisis diperoleh perbedaan yang bermakna pada total telur yang dihasilkan. Variasi dosis EDTA pada darah tidak berbeda bermakna terhadap fertilitas telur dan perkembangan stadium pradewasa. Dosis EDTA terbaik yang dapat meningkatkan produktivitas dan perkembangan stadium pradewasa adalah 7 µl/ml.

Saran

Agar pemanfaatan *membran blood feeding* untuk kolonisasi nyamuk di laboratorium dapat maksimal

perlu pengamatan lebih lanjut tentang pengaruh dosis EDTA pada perkembangan generasi nyamuk. Selain itu perlu juga dikaji seberapa besar pengaruh jenis darah dan lama penyimpanan darah terhadap kemampuan reproduksi nyamuk di laboratorium.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala B2P2VRP, Ka. Sarlit, Ka. Yanlit, Ka PPI yang telah memberikan dukungan selama proses penelitian dan para peneliti dan tehnsi yang membantu proses pelaksanaan penelitian ini. Kami juga mengucapkan terima kasih juga kepada Dra Widiarti, M. Kes yang telah membimbing selama proses penelitian dan penulisan artikel. Tidak lupa kami juga mengucapkan terima kasih kepada Kepala Rumah Potong Hewan (RPH) Kota Salatiga yang telah mengizinkan pengambilan darah sapi untuk proses penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Apperson CS, Hassan HK, Harrison B a, Savage HM, Aspen SE, Farajollahi A, et al., 2004. Host feeding patterns of established and potential mosquito vectors of West Nile Virus in the Eastern United States. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, 4(1), pp.71–82.
- Ariani C V, Smith SCL, Osei-Poku J, Short K, Juneja P & Jiggins FM, 2015. Environmental and Genetic Factors Determine Whether the Mosquito *Aedes aegypti* Lays Eggs without a Blood Meal. *Am. J. Trop. Med. Hyg*, 92(4), pp.715–721.
- B2P2VRP, 2012. *Instruksi Kerja*, Salatiga.
- B2P2VRP, 2014. *Profil B2P2VRP Salatiga*, Salatiga.
- Benzon GL & Apperson CS, 1987. An electrically heated membrane blood-feeding device for mosquito colony maintenance. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 3(2), pp.322–4. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2904955>.
- Biomedicine T, 2012. A novel mosquito feeding system for routine blood-feeding of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. , 29(1), pp.169–174.
- Clement A., 1963. *The Physiology of Mosquito*, New York: A Pergsmon Pres Book.
- Degner EC & Harrington LC, 2016. A mosquito sperm's journey from male ejaculate to egg: Mechanisms, molecules, and methods for exploration. *Molecular Reproduction and Development*, 83 (10), pp.897–911.
- Demirci, Bena, Durmas, Ezra & Alten B, 2014. Influence of Bloodmeal Source on Reproductive Output of the Potential West Nile Vector, *Culex theileri* (Diptera: Culicidae). *Journal of medical entomology*, 51(6), pp.1312–1316.
- Diallo M, Toure a M, Traore SF, Niare O, Kassambara L, Konare a, et al., 2008. Evaluation and optimization of membrane feeding compared to direct feeding as an assay for infectivity. *Malar J*, 7, p.248. Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=19055715.
- Friend W. & Smith JJB, 1987. The Study of Insect Blood Feeding Behavior 1: Feeding Equipment, Physical and Endogenous Factors, Dose effect Analysis and Diet Destination. *Intern Symp on Insect*, 82(3), pp.11–17.
- Gray EM & Bradley TJ, 2003. Metabolic rate in female *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae): age, size, activity, and feeding effects. *Journal of medical entomology*, 40(6), pp.903–911.
- Gulia-Nuss M, Elliot A, Brown MR & Strand MR, 2015. Multiple factors contribute to anautogenous reproduction by the mosquito *Aedes aegypti*. *Insect Physiology*, 1(82), pp.8–16.
- Luo Y-P, 2014. A novel multiple membrane blood-feeding system for investigating and maintaining *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes. *Journal of vector ecology : journal of the Society for Vector Ecology*, 39(2), pp.271–277. Available at: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed13&NEWS=N&AN=25424255>.
- Lyski ZL, Sareddy JJ, Ciano K a, Stem J & Bowers DF, 2011. Blood feeding position increases success of recalcitrant mosquitoes. *Vector borne and zoonotic diseases (Larchmont, N.Y.)*, 11(8), pp.1165–1171.
- Masungi C, Mensch J, Dijck A Van, Borremans C, Willems B, Mackie C, et al., 2008. Parallel artificial membrane permeability assay (PAMPA) combined with a 10-day multiscreen Caco-2 cell culture as a tool for assessing new drug candidates. , 63.
- McCann S, Day JF, Allan S & Lord CC, 2010. Age modifies the effect of body size on fecundity in *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Journal of Vector ecology*, 34(2), pp.174–181.
- Mello CAB, Santos WP dos, Rodrigues MAB, Candeilas ALB, Gusmao CMG & M.Portela N, 2009. :Automatic Counting of Aeads aegypti Eggs in images of Ovitrap. *Recent Advances in Biomedical Engineering*, 3(5), pp.211–221.

- Mohri M, Shakeri H & Lotfollah Zadeh S, 2007. Effects of common anticoagulants (heparin, citrate and EDTA) on routine plasma biochemistry of cattle. *Comparative Clinical Pathology*, 16(3), pp.207–209. Available at: <http://www.springerlink.com/index/10.1007/s00580-006-0664-9>.
- Munga S, Vulule J & Kweka EJ, 2013. Response of *Anopheles gambiae* s.l. (Diptera: Culicidae) to larval habitat age in western Kenya highlands. *Parasites & vectors*, 6, p.13. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3564891&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Richards SL, Anderson SL & Yost S a, 2012. Effects of Blood meal source on the Reproduction of *Culex pipiens quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). , 37(1), pp.1–7.
- Sastroasmoro, Sudigdo dan Ismail S, 2002. *Dasar-dasar Metodologi Penelitian klinis*, Jakarta: Cv. Sagung Seto.
- Shaw WR, Teodori E, Mitchell SN, Baldini F, Gabrieli P, Rogers DW, et al., 2014. Mating activates the heme peroxidase HPX15 in the sperm storage organ to ensure fertility in *Anopheles gambiae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, p.201401715. Available at: <http://www.pnas.org/content/early/2014/04/02/1401715111> \n <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24711401> \n <http://www.pnas.org/content/early/2014/04/02/1401715111.full.pdf>.
- Sudjana, 2005. *Metoda Statistika*, Bandung: Tarsito Bandung.
- Taylor PJ & Hurd H, 2001. The influence of host haematocrit on the blood feeding success of *Anopheles stephensi*: implications for enhanced malaria transmission. *Parasitology*, 122, pp.491–496. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11393821>.
- Voordouw MJ, Koella JC & Hurd H, 2008. Intra-specific variation of sperm length in the malaria vector *Anopheles gambiae*: males with shorter sperm have higher reproductive success. *Malaria journal*, 7, p.214. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2605757&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.