



JLabMed

Journal Homepage: <http://jurnal.unimus.ac.id/index.php/JLabMed>

e-ISSN: 2549-9939

EFEKTIVITAS EKSTRAK BAWANG PUTIH (*Allium sativum L.*) DAN CUKA APEL TERHADAP MORTALITAS *Pediculus humanus capitis*

Dina Aristya Purdiani^{1*}, Dita Pratiwi Kusuma Wardani¹ Retno Sulistyowati¹

¹Program Studi Teknologi Laboratorium Medik D4, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Purwokerto

Info Artikel

Diterima 15 Februari 2021
Direvisi 20 Februari 2021
Disetujui 03 Maret 2021
Tersedia Online 31 Maret 2021

Keywords:

Pediculus humanus capitis,
Ekstrak Bawang Putih
konsentrasi 5%, Cuka Apel
konsentrasi 5%

Abstrak

Kutu rambut (*Pediculus humanus capitis*) merupakan parasit yang hidup di rambut dan kulit kepala manusia dengan cara menghisap darah dari kulit kepala manusia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak bawang putih (*Allium sativum L.*) dan cuka apel terhadap mortalitas *Ph. capitis*. Penelitian ini dilakukan secara true eksperimental dengan rancangan *posttest only control group design* yang terdiri dari 4 kelompok. Satu kelompok sebagai kontrol sedangkan 3 kelompok lainnya mendapat perlakuan pemberian ekstrak bawang putih konsentrasi 5%, cuka apel konsentrasi 5%, kombinasi ekstrak bawang putih konsentrasi 5% dan cuka konsentrasi 5%. Penelitian dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan dengan uji lanjut Posthoc Mann Whitney U. Pemberian ekstrak bawang putih konsentrasi 5% berpotensi menyebabkan mortalitas *Ph. capitis* pada pengamatan menit ke-25. Pemberian cuka apel konsentrasi 5% berpotensi menyebabkan mortalitas *Ph. capitis* pada pengamatan menit ke-15. Pemberian kombinasi ekstrak bawang putih konsentrasi 5% dan cuka apel konsentrasi 5% mampu menyebabkan mortalitas *Ph. capitis* pada pengamatan menit ke-10 bila dibandingkan dengan kelompok kontrol, kelompok ekstrak bawang putih konsentrasi 5%, dan cuka apel konsentrasi 5%. Terdapat perbandingan pemberian ekstrak bawang putih konsentrasi 5% dan cuka apel konsentrasi 5% berpotensi menyebabkan mortalitas *Ph. capitis*. Kombinasi ekstrak bawang putih konsentrasi 5% dan cuka apel konsentrasi 5% lebih efektif dalam membunuh *Ph. capitis*.

*Corresponding Author:

Dina Aristya Purdiani

Program Studi Teknologi Laboratorium Medik D4, Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Purwokerto

E-mail: dinaaristya19@gmail.com

Pendahuluan

Kutu rambut (*Pediculus humanus capitis*) merupakan parasit yang hidup di rambut dan kulit kepala manusia dengan cara menghisap darah dari kulit kepala manusia (Rassami & Soonwera, 2012). Penularan kutu rambut sangat mudah dan cepat meluas. Penularan ini dapat secara langsung (rambut ke rambut) atau melalui perantara seperti topi, sisir, bantal, kerudung. Selain itu, beberapa faktor yang dapat membantu penyebaran infestasi pedikulosis adalah faktor sosial-ekonomi, tingkat pengetahuan, *personal hygiene* buruk, serta kepadatan penduduk (Handoko, 2016).

Prevalensi *Ph. capitis* tersebar baik di negara maju maupun negara berkembang dan lebih sering menyerang pada anak perempuan dibandingkan anak laki-laki. Hal ini dikarenakan anak perempuan cenderung memiliki rambut yang panjang serta sering menggunakan aksesoris rambut. (Al-Bashtawy & Hasna, 2012). Prevalensi *Pedikulosis humanus capitis* di Australia sekitar 13%, Inggris 37,4%, Afrika 58,9%, Eropa 0,48-22,4%, Amerika 3,6-61,4% dan belum ada data statistik yang pasti terkait prevalensi *Ph. capitis* di Indonesia (Fadilah, 2015).

Cuka apel merupakan hasil fermentasi buah apel dan memiliki kandungan nutrisi enzim dan asam amino. Proses fermentasi memberikan khasiat penyembuhan, yaitu sebagai obat rematik, asam urat, pengapuran sendi kolesterol, hipertensi, menormalkan tekanan darah, maag, panas dalam, masuk angin, obat rambut, serta meningkatkan vitabilitas daya tahan tubuh. Cuka atau karib disebut vinegar berasal dari bahan kaya gula seperti anggur, apel, nira kelapa, dan malt (Atro, 2015).

Cuka sari apel obat tradisional yang digunakan untuk pengobatan infeksi jamur. Kandungan asam asetat yang terdapat pada cuka sari apel dapat menghancurkan membran luar dinding sel organisme, meningkatkan produksi peptida antimikroba

di sel inang, menghambat sintesis makromolekul, dan mengonsumsi energi mikroba. Asam organik yang terdapat pada cuka sari apel dapat menurunkan nilai pH dan mempengaruhi pertumbuhan dengan mengasamkan sel yang nantinya sel tersebut akan mengonsumsi banyak energi untuk mempertahankan homeostasis pH intraseluler. Selain itu, kemungkinan cara kerja asam organik lainnya adalah dengan mengganggu reaksi metabolik dan akumulasi anion beracun (Hassan, 2018).

Pritacindy (2018), menyebutkan bahwa ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L.) sangat efektif sebagai insektisida terhadap kutu rambut (*Pediculus humanus capitis*). Efek ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L.) terhadap kutu rambut (*Pediculus humanus capitis*) pada konsentrasi terendah 4% membutuhkan waktu bunuh selama 0,4450 jam, konsentrasi 6% membutuhkan waktu bunuh selama 0,1380 jam, dan konsentrasi tertinggi 8% membutuhkan waktu bunuh selama 0,0630 jam. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak bawang putih maka semakin efektif sebagai insektisida terhadap kutu rambut sehingga ekstrak bawang putih dengan konsentrasi 8% lebih efektif dari pada ekstrak bawang putih dengan konsentrasi 4% dan 6%.

Saat ini masih belum banyak penelitian alternatif untuk pengobatan pada pedikulosis di Indonesia. Berdasarkan uraian diatas, peneliti ingin mengetahui efektifitas asam cuka terhadap mortalitas *Ph. capitis*.

Bahan dan Metode

Jenis penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan rancangan *posttest only control group design* yang terdiri dari 4 kelompok. Satu kelompok sebagai kontrol sedangkan tiga kelompok mendapat perlakuan ekstrak Bawang Putih (*Allium sativa* L.) konsentrasi 5%, cuka apel konsentrasi 5% dan kombinasi ekstrak bawang putih (*Allium sativa* L.) dan cuka apel konsentrasi 5%. Masing- masing

kelompok perlakuan terdiri atas 10 ekor kutu rambut. Setiap kelompok dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Alat yang digunakan antara lain gelas ukur, sisir serit, alat tulis, pinset, blender (Quatre), beaker glass (Bosil), *handscone* dan masker, sedangkan bahan yang digunakan antara lain *Pediculus humanus capitis*, bawang putih, cuka apel, akuades, etanol 96%.

Hasil

Berdasarkan Tabel 1. diketahui bahwa median mortalitas *Ph. capitis* pada kelompok kontrol hanya sebanyak 2,00 (1-3) ekor hingga menit ke- 60. Mortalitas *Ph. capitis* pada kelompok ekstrak bawang putih 5% mati seluruhnya pada menit ke- 25 dengan median 0,00(0-1) ekor. Mortalitas *Ph. capitis* pada kelompok cuka apel 5% mati seluruhnya pada menit ke- 15 dengan median 2,00(1-2) ekor. Mortalitas *Ph. capitis* pada kelompok kombinasi ekstrak bawang putih 5% dan cuka apel 5% seluruhnya mati pada menit ke- 10 dengan median 4,00(3-4) ekor.

Dengan kata lain, mortalitas *Ph. capitis* paling cepat pada kelompok kombinasi ekstrak bawang putih 5% dan cuka apel 5% pada pengamatan menit ke- 10 dibandingkan dengan kelompok lainnya.

Hasil analisis uji Kruskal-Wallis menunjukkan bahwa mortalitas *Ph. capitis* dengan beda nyata signifikan pada seluruh kelompok perlakuan, antara lain pengamatan pada menit ke- 5 ($p= 0,015$), menit ke- 10 ($p= 0,039$), menit ke- 15 ($p= 0,017$), dan menit ke- 20 ($p= 0,013$) sehingga dilanjutkan dengan uji lanjut Posthoc Mann Whitney U yang disajikan pada Tabel 2.

Berdasarkan Tabel 4.2 diketahui bahwa kelompok yang menunjukkan beda nyata signifikan pada pengamatan menit ke- 5, antara lain kelompok kontrol dengan kelompok ekstrak bawang putih 5% ($p = 0,034$), kelompok kontrol dengan kelompok cuka apel 5% ($p = 0,037$), kelompok kontrol dengan kelompok kombinasi ekstrak bawang putih 5% dan cuka apel 5% ($p = 0,034$),

Tabel 1. Analisis Kruskal-Wallis Mortalitas *Ph capitis* (%)

| Menit | Mortalitas <i>Ph capitis</i> (ekor) | | | | |
|-------|-------------------------------------|------------------------------|-------------------|---|--------|
| | Median (Min-Max) | | | | |
| | Perlakuan | | | | |
| | Kontrol (K) | Ekstrak Bawang Putih 5% (P1) | Cuka Apel 5% (P2) | Ekstrak Bawang Putih 5% dan Cuka Apel 5% (P3) | P |
| 5 | 0 | 2,00 (2-3) | 4,00(3-5) | 6,00(6-7) | 0,015* |
| 10 | 0 | 4,00(2-4) | 4,00(4-5) | 4,00(3-4) | 0,039* |
| 15 | 0 | 2,00(2-3) | 2,00(1-2) | 0 | 0,017* |
| 20 | 0 | 1,00(1-3) | 0 | 0 | 0,013* |
| 25 | 1,00(0-1) | 0,00(0-1) | 0 | 0 | 0,214 |
| 30 | 1,00(0-1) | 0 | 0 | 0 | 0,086 |
| 35 | 1,00(0-2) | 0 | 0 | 0 | 0,088 |
| 40 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1,000 |
| 45 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1,000 |
| 50 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1,000 |
| 55 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1,000 |
| 60 | 2,00(1-3) | 0 | 0 | 0 | 0,013 |

Keterangan : *) menunjukkan beda nyata signifikan ($P<0,05$)

Tabel 2. Uji Posthoc Mann Whitney U

| Perlakuan | Mortalitas <i>Ph capitis</i> | | | |
|-----------|------------------------------|----------|----------|----------|
| | Waktu Pengamatan | | | |
| | 5 menit | 10 menit | 15 menit | 20 menit |
| K vs P1 | 0,034* | 0,034* | 0,034* | 0,034* |
| K vs P2 | 0,037* | 0,034* | 0,034* | 1,000 |
| K vs P3 | 0,034* | 0,034* | 1,000 | 1,000 |
| P1 vs P2 | 0,072 | 0,197 | 0,197 | 0,034* |
| P1 vs P3 | 0,043* | 0,796 | 0,034* | 0,034* |
| P2 vs P3 | 0,046* | 0,197 | 0,034* | 1,000 |

Keterangan: *) menunjukkan beda nyata signifikan ($P < 0,05$)

K = Kel kontrol, P1= Kel ekstrak bawang putih 5%, P2 = Kel cuka apel 5%, P3 = Kel kombinasi ekstrak bawang putih 5% dan cuka apel 5%

kelompok ekstrak bawang putih 5% dengan kelompok kombinasi ekstrak bawang putih 5% dan cuka apel 5% ($p = 0,043$), kelompok cuka apel 5% dengan kelompok kombinasi ekstrak bawang putih 5% dan cuka apel 5% ($p = 0,046$). Kelompok yang tidak menunjukkan beda nyata signifikan adalah kelompok ekstrak bawang putih 5% dengan kelompok cuka apel 5%.

Kelompok yang menunjukkan beda nyata signifikan pada pengamatan menit ke- 10, antara lain kelompok kontrol dengan kelompok ekstrak bawang putih 5% ($p = 0,034$), kelompok kontrol dengan kelompok cuka apel 5% ($p = 0,034$), kelompok kontrol dengan kelompok kombinasi ekstrak bawang putih 5% dan cuka apel 5% ($p = 0,034$). Kelompok yang tidak menunjukkan beda nyata signifikan adalah kelompok ekstrak bawang putih 5% dengan kelompok cuka apel 5%, kelompok cuka apel 5% dengan kelompok kombinasi ekstrak bawang putih 5% dan cuka apel 5% , kelompok ekstrak bawang putih 5% dengan kelompok kombinasi ekstrak bawang putih 5% dan cuka apel 5%.

Kelompok yang menunjukkan beda nyata signifikan pada pengamatan menit ke- 15, antara lain kelompok kontrol dengan kelompok ekstrak bawang putih 5% ($p = 0,034$), kelompok kontrol dengan kelompok cuka apel 5% ($p = 0,034$), kelompok ekstrak bawang putih 5% dengan kelompok kombinasi ekstrak bawang putih 5% dan cuka apel 5% dan

cuka apel 5% ($p = 0,034$), kelompok cuka apel 5% dengan kelompok kombinasi ekstrak bawang putih 5% dan cuka apel 5% ($p = 0,34$). Kelompok yang tidak menunjukkan beda nyata signifikan adalah kelompok kontrol dengan kelompok kombinasi ekstrak bawang putih 5% dan cuka apel 5%, kelompok ekstrak bawang putih 5% dengan kelompok cuka apel 5%.

Kelompok yang menunjukkan beda nyata signifikan pada pengamatan menit ke- 20, antara lain kelompok kontrol dengan kelompok ekstrak bawang putih 5% ($p = 0,034$), kelompok ekstrak bawang putih 5% dengan kelompok cuka apel 5% ($p = 0,034$), kelompok ekstrak bawang putih 5% dengan kelompok kombinasi ekstrak bawang putih 5% dan cuka apel 5% ($p = 0,034$). Kelompok yang tidak menunjukkan beda nyata signifikan adalah kelompok kelompok kontrol dengan kelompok cuka apel 5% kelompok kontrol dengan kelompok kombinasi ekstrak bawang putih 5% dan cuka apel 5%, dan kelompok cuka apel 5% dengan kelompok kombinasi ekstrak bawang putih 5% dan cuka apel 5%.

Diskusi

Hasil penelitian yang menunjukan bahwa ekstrak bawang putih 5% berpengaruh terhadap mortalitas *Ph. capitis* selaras dengan hasil penelitian Pritacindy et al. (2018) yang menunjukan pemberian ekstrak

bawang putih 4%, 6%, dan 8% terbukti mematikan *Ph. capitis*. Waktu kematian *Ph. capitis* pada konsentrasi 4% selama 0,4450 jam, konsentrasi 6% selama 0,1380 jam, dan konsentrasi 8% selama 0,0630 jam. Waktu kematian *Ph. capitis* dalam penelitian ini pada konsentrasi 5% adalah 25 menit.

Hasil penelitian ini sejalan juga dengan hasil penelitian Wati (2019) yang menunjukkan bahwa pemberian bawang putih konsentrasi 8% mampu mematikan *Ph. capitis* dewasa dengan rerata 22 menit sedangkan konsentrasi 16% mampu mematikan *Ph. capitis* dewasa dengan rerata 13 menit. Hasil uji Mann Whitney menunjukkan adanya beda nyata signifikan antara pemberian bawang putih dengan mortalitas *Ph. capitis* ($p = 0,000$). Waktu mortalitas bawang putih konsentrasi 16% lebih efektif dibandingkan dengan konsentrasi 8%.

Ekstrak bawang putih terbukti dapat menyebabkan kematian karena adanya senyawa allixin, flavonoid, dan saponin (Pritacindy *et al.*, 2018). Allixin berperan memberi memberi aroma yang khas pada bawang putih, mengandung sulfur, bekerja merusak membran sel parasit sehingga menghambat perkembangan, dan memiliki daya antibiotik cukup ampuh (Hanani, 2013). Flavonoid bersifat sebagai racun perut apabila masuk ke dalam tubuh serangga dan mengganggu organ pencernaan (Nisma, 2011). Saponin bersifat racun yang dapat menghancurkan butir darah atau hemolisis darah (Rachman, 2015).

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini untuk memperoleh ekstrak bawang putih adalah etanol. Suhendra *et al.* (2019) menyatakan bahwa konsentrasi etanol berpengaruh terhadap rendemen, total fenol, total flavonoid dan aktifitas menghambat radikal DPPH (2,2-difenil-1- pikrilhidrazil) ekstrak rimpang ilalang. Penggunaan etanol dapat memperoleh senyawa bioaktif dan aktivitas antioksidan pada ekstrak. Hal ini dikarenakan flavonoid dapat terdeteksi bila

menggunakan pelarut etanol karena flavonoid termasuk dalam senyawa fenolik yang dapat bereaksi dengan radikal bebas karena kemampuannya sebagai reduktor (mendonorkan elektron) sehingga produk yang dihasilkan lebih stabil dan menghambat reaksi berantai radikal bebas (Plaza *et al.*, 2014).

Waktu yang dibutuhkan untuk mematikan *Ph. capitis* setelah pemberian cuka apel konsentrasi 5% dalam penelitian ini adalah 15 menit. Penelitian yang dilakukan oleh Lee *et al.* (2004) menunjukkan bahwa penggunaan cuka tidak terlalu efektif dalam membasmi kutu rambut. Berbanding terbalik dengan penelitian Werner (2010) yang menunjukkan bahwa cuka mampu memberantas nit *Ph. capitis* apabila serit yang digunakan dicuci dengan cuka yang dicampur air hangat dengan perbandingan 1:1 selama 30 menit. Cuka menyebabkan permukaan rambut halus sehingga memudahkan lepasnya kutu dewasa dan telur *Ph. capitis*. Cuka apel memiliki senyawa asam asetat yang mampu melonggarkan ikatan kuat antara telur *Ph. capitis* dan rambut sehingga memudahkan aktivitas dalam membunuh stadium telur dan dewasa *Ph. capitis* (Ami, 2020).

Waktu yang dibutuhkan untuk mematikan *Ph. capitis* setelah pemberian kombinasi ekstrak bawang putih konsentrasi 5% dan cuka apel konsentrasi 5% dalam penelitian ini adalah 10 menit. Hasil penelitian yang menunjukkan adanya beda nyata signifikan kombinasi ekstrak bawang putih konsentrasi 5% dan cuka apel konsentrasi 5% ($p = 0,039$) berbanding terbalik dengan penelitian Aziza (2019) yang menunjukkan tidak ada beda nyata signifikan campuran ekstrak bunga lawang dan cuka dengan perbandingan 30:70. Meskipun tidak menunjukkan beda nyata signifikan, namun konsentrasi perbandingan tersebut optimum dalam mematikan kutu dewasa. Adanya pengaruh kombinasi ekstrak bawang putih konsentrasi 5% dan cuka apel konsentrasi 5% bisa jadi disebabkan karena adanya senyawa

allixin, flavonoid, saponin, dan asam asetat sehingga efektif dalam membunuh *Ph. capitis* dewasa (Pritacindy *et al*, 2018; Ami, 2020).

Referensi

- Al Bashtawy, Hasna, F. 2012. Pediculosis capitis among primary-school children in Mafrq bovernorate, Jordan. *Eastern Mediterranean Health Journal (EMHJ)*. 18(1):43-48
- Ami, E. 2020. Sudah Terbukti! 5 Bahan Alami untuk Membasmi Kutu Rambut dan Telurnya. <https://www.idntimes.com/health/medical/eka-amira/bahan-alami-untuk-membasmi-kutu-rambut-dan-telurnya-c1c2>. [update 11 may 2020 cited 20 November 2020].
- Atro, Nurmiati, P. 2015. Keberadaan Mikroflora Alami Dalam Fermentasi Cuka Apel Hijau (*Malus Sylvestris* Mill) Kultivar Granny Smith. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 4(3):158- 161
- Fadilah, H. 2015. Perbedaan Metode Ceramah dan Leaflet Terhadap Skor Pengetahuan Santriwati Tentang Pediculosis capitis di Pondok Pesantren Al-Mimbar Sambongdukuh Sombang. *SKRIPSI*. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah Jakarta
- Hanani, S. 2013. Uji Efektivitas Larutan Bawang Putih Sebagai Insektisida Nabati Untuk Membunuh Larva Nyamuk *Aedes Aegyti*. Skripsi. Gorontalo: Universitas Negeri Gorontalo.
- Handoko, R. P. 2016. Pediculosis. Dalam: Linuwih, S., Bramono, K. Dan Indriatmi, W. Editor. *Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin*. Edisi ke tujuh hal:134-135. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia: Jakarta
- Hassan M. S. 2018. The effect of apple cider vinegar (ACV) as an antifungal in a diabetic patient (type II diabetes) with intraoral candidosis (a case report). *Internasional Journal of Dentistry and Oral Health*. 4(5).54-7.
- Lee, M. T., John, D. E., Bradley, A. M., John, M.C. 2004. Home remedies to control head lice: assessment of home remedies to control the human head louse, *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae). *Journal of Pediatric Nursing*. 19(6):393-398.
- Nisma, Utarmi, N. 2011. Isolasi Senyawa Flavonoid Dari Ekstrak Air Serbuk Daun Gamal (*Gliricidia Maculata*) Dan Uji Toksisitasnya Terhadap Hama Kutu Putih Pepaya (*Paracoccus marginatus*). Skripsi. Bandar Lampung: Universitas Lampung.
- Plaza, C.M., L.E Diaz de Torres, R.K. Lucking, M. Vizcaya dan G.E. Medina. 2014. Antioxidant activity, total phenols and flavonoids of lichens from venezuelan andes. *Journal of Pharmacy and Pharmacognosy Research* 2:138-147.
- Pritacindy, P. A., Supriyadi, Kurniawan, A. 2018. Uji Efektifitas Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) Sebagai Insektisida Terhadap Kutu Rambut (*Pediculus capitis*). *Jurnal Universitas Negeri Malang: Jawa Timur*
- Rachman, A. 2015. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Saponin Ekstrak Metanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Chem Info*, 1(1):1.
- Rassami, W., Soonwera, M. 2012. Epidemiology of pediculosis capitis among school children in the eastern area of Bangkok, Thailand. *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine*. 2 (11): 901-904
- Suhendra, P.C., I Wayan, R.W., Anak, A.I.S.W. 2019. Pengaruh Konsentrasi Etanol Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Ilalang (*Imperata cylindrica* (L) Beauv.) Pada Ekstraksi

- Menggunakan Gelombang Ultrasonik. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan* ISSN : 2527-8010 (ejournal) Vol. 8, No.1, 27-35
- Wati, Fitria. 2019. Efektifitas Pemberian Bawang Putih (*Allium sativum*) Terhadap pemberian Hygiene Anak Dengan Pediculosis Capitis (Gambaran Mortalitas Kutu). Undergraduate thesis. Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Werner, D., C. Thuman, dan J. Maxwell. 2010. Apa Yang Anda Kerjakan Bila Tidak Ada Dokter. Yogyakarta: ANDI OFFSETProsiding Seminar Nasional Publikasi Hasil-Hasil Penelitian dan Pengabdian Masyarakat “Implementasi Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Untuk Peningkatan Kekayaan Intelektual”
- Notoatmodjo. 2012. Metodologi Penelitian Kesehatan. Jakarta: Rineka Cipta.