

VARIASI KONSENTRASI KOH DAN WAKTU CLEARING TERHADAP KUALITAS PREPARAT AWETAN *Pediculus humanus capitis*

Arya Iswara, Fitri Nuroini

ABSTRAK

Pembuatan sediaan permanen entomologi/insekta diawali dengan perendaman dalam KOH, dilanjutkan dengan proses dehidrasi, proses clearing dan proses mounting. Perendaman dalam KOH bertujuan menipiskan lapisan kitin pembentuk eksoskeleton pada insekta. Tahapan Clearing merupakan salah satu tahapan pembuatan awetan permanen yang bertujuan menjadikan struktur parasit insekta terlihat lebih jelas, jernih, dan transparan. Penelitian dilakukan dengan variasi perendaman dalam larutan KOH 5%, 10%, 15%, dan 20% selama 24 jam, serta variasi lama waktu clearing 5, 15, 25, dan 60 menit. Pengamatan sediaan awetan permanen dilakukan dengan menilai kualitas sediaan awetan permanen. Kualitas sediaan awetan permanen meliputi kejernihan, kualitas warna, dan keutuhan sediaan awetan permanen. Hasil penelitian menunjukkan hasil yang bervariasi, kualitas yang buruk didapatkan pada kombinasi antara variabel waktu clearing 5 menit pada seluruh variasi konsentrasi KOH dan pada variabel waktu clearing 15 menit pada konsentrasi KOH 5%. Hasil dengan kualitas baik ditunjukkan pada variabel waktu clearing 15 menit pada konsentrasi KOH 10%, 15%, dan 20%, serta pada variabel waktu clearing 25 dan 60 menit pada seluruh variasi konsentrasi KOH. Hasil kualitas yang baik disertai dengan peningkatan dan penurunan nilai skoring. Hasil dari penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa semakin lama waktu clearing akan menghasilkan preparat yang lebih baik dengan nilai skoring yang berbeda berdasarkan persentase KOH yang digunakan.

Keywords: KOH, clearing, *Pediculus humanus capitis*

PENDAHULUAN

Sediaan preparat merupakan salah satu upaya teknis laboratorium untuk dapat mengidentifikasi atau mengenali parasit yang mengganggu manusia. Saat ini serangga yang masih banyak menginfeksi manusia adalah *Pediculus humanus capitis* atau yang sering disebut dengan kutu kepala.

Ketidaklayakan sediaan permanen, dikarenakan adanya kesalahan pada tahap pelaksanaan pembuatan preparat. Pembuatan preparat tidak hanya melalui satu tahapan, sehingga kesalahan dalam pembuatan preparat bisa saja terjadi, kesalahan dalam pembuatan preparat inilah yang membuat kerusakan preparat, kerusakan meliputi preparat tidak terlihat jelas atau bagian tubuh serangga menjadi buram, preparat menjadi tidak utuh atau ada bagian-bagian dari tubuh spesimen yang rusak atau hilang, serta preparat tidak bertahan dalam jangka waktu yang lama. (Widiyanti, 2013)

Pembuatan sediaan permanen *P. humanus capitis* diawali dengan perendaman dalam Kalium hidroksida (KOH) (penipisan eksoskeleton), proses dehidrasi (penarikan molekul air), proses clearing (penjernihan),

dan yang terakhir proses mounting (perekatan jaringan) (Soedarto, 2011)

KOH dapat digunakan dalam proses penipisan eksoskeleton pada serangga, karena penyusun eksoskeleton serangga adalah khitin yang berikatan dengan protein. Proses deproteinasi ini akan memecah ikatan peptida pada molekul protein. Pecahnya ikatan peptida dalam protein ini akan membuat eksoskeleton serangga menipis (Fatihyah, 2008)

Clearing merupakan proses yang bertujuan menjadikan struktur parasit terlihat lebih jelas, jernih, dan transparan saat diamati di bawah mikroskop (Sumanto, 2014).

BAHAN DAN METODE

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah *P. humanus capitis*. *P. humanus capitis* yang digunakan dalam penelitian ini dipilih dengan kriteria ukuran tubuh yang berukuran tidak jauh berbeda, kriteria ini diberlakukan karena diharapkan agar mendapatkan *P. humanus capitis* dengan umur yang sama (dilihat dari ukuran badan) sehingga tebal lapisan khitin dari tiap-tiap sampel diperkirakan sama karena ketebalan *P. humanus capitis* seiring dengan fase hidupnya. Tebal lapisan khitin yang tidak serupa dapat

menjadi perancu hasil penipisan khitin yang dilakukan dengan KOH.

P. humanus capitis masing-masing direndam dalam larutan KOH dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, dan 20% selama 24 jam, kemudian dibilas dengan aquadest. Langkah berikutnya dimasukkan dalam larutan alkohol 30% dengan waktu perendaman selama 15 menit dan dilakukan 3 kali pergantian larutan sehingga total waktu yang diperlukan 45 menit untuk larutan alkohol 30%. *P. humanus capitis* diangkat dari larutan alkohol 30% dan dilakukan penggencetan dengan 2 object glass untuk mengeluarkan cairan dari dalam tubuhnya. Perendaman dilanjutkan dalam larutan alkohol 50% dan 96% dengan cara yang sama pada alkohol 30% dan dilanjutkan direndam dengan larutan alkohol absolute selama 15 menit.

Proses dilanjutkan dengan perendaman pada larutan xylol sebanyak 2 kali, masing dengan lama waktu 5 menit, 15 menit, 25 menit dan 60 menit yang dilakukan untuk seluruh

variabel konsentrasi KOH. Kemudian proses terakhir diletakkan diatas object glass dan diberi entellan kemudian ditutup dengan deck glass dan dilanjutkan dengan pengamatan mikroskopis untuk melakukan penilaian kualitas sediaan awetan.

Penilaian sediaan awetan permanen dilakukan dengan menilai kualitas sediaan awetan *P. humanus capitis*. Kualitas sediaan awetan permanen meliputi kejernihan, kualitas warna, dan keutuhan sediaan awetan permanen.

Untuk menilai kualitas sediaan awetan permanen pengamat memberikan rentang skor 1 - 3, skor 1 apabila kejernihan, kualitas warna dan keutuhan sediaan buruk. Skor 2 apabila kejernihan, kualitas warna dan keutuhan sediaan cukup baik, Skor 3 apabila kejernihan, kualitas warna dan keutuhan sediaan baik Sehingga rentang skor antara 3–6 akan diartikan sebagai kualitas sediaan yang buruk dan rentang skor 7–9 dinyatakan sebagai sediaan baik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel hasil rata-rata skoring kualitas sediaan awetan *P. humanus capitis* berdasarkan konsentrasi KOH dan lama waktu clearing

Variasi waktu clearing	Konsentrasi KOH			
	5 %	10 %	15 %	20 %
5'	3,7	4,0	4,9	4,5
15'	6,4	7,5	8,3	7,4
25'	7,6	8,7	8,8	7,8
60'	7,5	8,7	8,8	7,7

Hasil penelitian menunjukkan hasil yang bervariasi pada variasi konsentrasi KOH dan variasi waktu clearing, kualitas yang buruk didapatkan pada kombinasi antara variabel waktu clearing 5 menit pada seluruh variasi konsentrasi KOH dan pada variabel waktu clearing 15 menit pada konsentrasi KOH 5%. Hasil dengan kualitas baik ditunjukkan pada variabel waktu clearing 15 menit pada konsentrasi KOH 10%, 15%, dan 20%, serta pada variabel waktu clearing 25 dan 60 menit pada seluruh variasi konsentrasi KOH.

Data pada tabel menunjukkan hasil yang paling baik dengan hasil skor yang tidak terpaut jauh terdapat pada kombinasi KOH 10% dan 15% dengan variasi lama clearing 25 menit dan 60 menit. Hasil yang tidak terpaut

jauh antara waktu clearing 25 menit dan 60 menit (konsentrasi KOH 10% dan 15%) dapat diartikan bahwa waktu 25 menit sudah cukup untuk menjernihkan awetan *P. humanus capitis*, sehingga tidak perlu untuk menggunakan waktu clearing yang lebih lama.

Hasil preparat awetan *P. humanus capitis* yang baik meliputi kejernihan, kualitas warna, dan keutuhan anggota tubuh *P. humanus capitis*.



Gambar 1. Foto pengamatan preparat *P. humanus capitis* dengan kategori baik

Gambaran preparat dengan skoring baik dapat diamati pada gambar 1. Dapat dilihat bahwa pada preparat yang baik menunjukkan tubuh yang jernih, kualitas warna yang tidak mengganggu pengamatan serta bagian-bagian tubuh yang utuh sehingga dapat diamati setiap bagiannya, sehingga bisa dipelajari morfologi tubuhnya.

Morfologi tubuh yang tidak jernih dan khitin yang masih tebal dapat mengganggu pengamatan. Apabila suatu preparat tidak jernih dan khitin masih tebal dikategorikan sebagai preparat yang buruk. Contoh dari hasil preparat buruk dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 1. Foto pengamatan preparat *P. humanus capitis* dengan kategori buruk

Penelitian ini juga menunjukkan adanya hasil dengan penurunan skor yang terjadi pada variasi konsentrasi KOH 20% pada semua variasi lama waktu clearing yang nilainya cukup menurun bila dibandingkan dengan konsentrasi KOH 10% dan 15%. Pada kombinasi variasi ini ditemukan beberapa bagian tubuh yang terlepas. Hal ini dimungkinkan karena fungsi dari larutan KOH (untuk menipiskan larutan khitin) yang menimbulkan efek berlebihan pada konsentrasi yang terlalu tinggi. Tingginya konsentrasi dan waktu perendaman selama 24 jam menyebabkan penipisan lapisan khitin menjadi terlalu tipis dan akhirnya mengakibatkan rusaknya bagian tubuh *P. humanus capitis* pada saat perendaman.

Preparat dengan hasil yang warna yang jernih dan transparan tetapi terdapat bagian tubuh yang terlepas akan mengurangi kualitas preparat. Contoh terdapat pada gambar 3.



Gambar 3. Foto pengamatan preparat *P. humanus capitis* dengan morfologi tidak lengkap

Terlepasnya bagian tubuh mengakibatkan penurunan kualitas preparat, terlebih lagi apabila preparat yang dihasilkan menunjukkan morfologi yang tidak lengkap dan tidak jernih, akan mengganggu dalam tahap identifikasi. Seperti yang terlihat pada gambar 4.



Gambar 4. Foto pengamatan preparat *P. humanus capitis* dengan morfologi tidak lengkap dan tidak transparan.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan hasil yang bervariasi, kualitas yang buruk didapatkan pada kombinasi antara variabel waktu clearing 5 menit pada seluruh variasi konsentrasi KOH dan pada variabel waktu clearing 15 menit pada konsentrasi KOH 5%. Hasil dengan kualitas baik ditunjukkan pada variabel waktu clearing 15 menit pada konsentrasi KOH 10%, 15%, dan 20%, serta pada variabel waktu clearing 25 dan 60 menit pada seluruh variasi konsentrasi KOH. Hasil kualitas yang baik disertai dengan peningkatan dan penurunan nilai skoring.

DAFTAR PUSTAKA

Fatihyah, SR. 2006, Deproteinasi Kulit Udangsecara Fermentasi menggunakan Isola *Bacillus licheniformis* F11 pada Ekstraksi Kitin. IPB

- Soedarto. 2011. Buku ajar Parasitologi Kedokteran. Sagung Seto. Jakarta
- Sumanto,D. 2014. Belajar Sitohistoteknologi untuk Pemula. IAKIS. Semarang
- Widiyanti, M. 2013. Pola Perindukan Nyamuk Yang Ditangkap Di Perindukan Di Kabupaten Buleleng Dan Manfaatnya Sebagai Bahan Praktikum Dalam Perkuliahan Zoologi Invertebrata.