



# Fixation Process With 10% KOH Immersion And Variation Of Heating Temperatures On The Quality Of *Pediculus humanus capitis*

## Proses Fiksasi Dengan Perendaman KOH 10% Dan Variasi Suhu Pemanasan Terhadap Kualitas Sediaan *Pediculus humanus capitis*

Nurul Azizah<sup>1</sup>, Erni Yohani Mahtuti<sup>1\*</sup>, Faisal<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Prodi D3 Teknologi Laboratorium Medis, Stikes Maharani Malang, Jawa Timur, Indonesia

<sup>2</sup>Prodi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Malang, Jawa Timur, Indonesia

### ABSTRACT

The preparation of preserved preparations is one of the useful methods to determine the morphology of ectoparasites and insects whose manufacturing process goes through four stages starting with 10% KOH fixation, dehydration process, clearing process, and mounting process. The 10% KOH immersion serves to thin out the chitin layer that forms the exoskeleton, which is a thick covering on the body surface of *Pediculus humanus capitis* (human lice). The purpose of this study was to determine the quality of the preserved preparations of *Pediculus humanus capitis* by immersing them in 10% KOH at temperatures of 60°C, 70°C, 80°C, and 90°C for 30 minutes using the whole mount method, in order to observe the entire morphology of the species clearly. The sample used is *Pediculus humanus capitis* adult stage, as many as 24 tails. Observation of the quality of preserved preparations was assessed based on clarity, color quality, and morphological integrity. At a temperature of 60°C, two good qualities are obtained. Three good qualities are obtained at 70°C. At 80°C, it is of good quality, and at 90°C, there is no good quality. The results of the study were then subjected to statistical tests using the Kruskal-Wallis test, which obtained a p value of  $0.040 < 0.05$ , so that it could be interpreted that there was an influence of variations in heating temperature and 10% KOH immersion on the quality of *Pediculus humanus capitis* preserved preparations. namely, by immersing 10% KOH at 70°C for 30 minutes, with complete morphological characteristics, transparent color, and a clear appearance.

**Keywords:** KOH 10% Fixation, *Pediculus humanus capitis*, Preserved Quality

### ABSTRAK

Pembuatan preparat awetan adalah sediaan sampel yang berguna untuk melihat morfologi pada ektoparasit yang mana proses pembuatannya melalui 4 tahapan diawali dengan fiksasi KOH 10%, dehidrasi, clearing dan mounting. Perendaman KOH 10% berfungsi untuk melunakkan lapisan kitin pada eksoskeleton yang merupakan pembungkus tebal pada permukaan tubuh *Pediculus humanus capitis*

### OPEN ACCESS

ISSN 2580-7730 (online)

**Edited by:**

Andika Aliviameita

**\*Correspondence:**

Erni Yohani Mahtuti

yohanierni@stikesmaharani.ac.id

**Received:** 03 Agustus 2022

**Accepted:** 15 November 2022

**Published:** 31 Desember 2022

**Citation:**

Azizah N, Mahtuti EY, Faisal  
(2022)

Fixation Process With 10% KOH  
Immersion And Variation Of Heating  
Temperatures On The Quality Of  
*Pediculus Humanus Capitis*  
*Medicra (Journal of Medical  
Laboratory Science/Technology).*

5:2.

doi: 10.21070/medicra.v5i2.1635

(kutu manusia). Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan kualitas sediaan *Pediculus humanus capitis* yang direndam dalam KOH 10% pada suhu 60°C, 70°C, 80°C dan 90°C dengan waktu 30 menit menggunakan metode *whole mount*, agar dapat mengamati seluruh morfologi spesies dengan jelas. Sampel yang digunakan adalah *Pediculus humanus capitis* stadium dewasa sebanyak 24 ekor. Pengamatan kualitas preparat awetan dinilai berdasarkan kejernihan, kualitas warna serta keutuhan morfologi. Pada suhu 60°C didapatkan 2 kualitas baik, suhu 70°C didapatkan 3 kualitas baik, suhu 80°C didapatkan 1 kualitas baik dan suhu 90°C tidak mendapatkan kualitas baik. Hasil penelitian kemudian dilakukan uji statistik menggunakan Uji Kruskal Wallis yang diperoleh angka  $p = 0,040 < 0,05$  yang berarti terdapat adanya pengaruh variasi suhu pemanasan pada perendaman KOH 10% terhadap kualitas sediaan awetan *Pediculus humanus capitis*. Berdasarkan perlakuan yang terbaik yakni pada perendaman KOH 10% suhu 70°C selama 30 menit dengan ciri-ciri morfologi lengkap, warna transparan dan tampak jernih.

**Kata Kunci:** Fiksasi KOH 10%, *Pediculus humanus capitis*, Kualitas Preparat Awetan

## PENDAHULUAN

*Pediculus humanus capitis* atau yang dikenal dengan kutu kepala adalah ektoparasit yang ada pada anggota tubuh manusia khususnya kulit kepala manusia. Cara hidupnya dengan menghisap darah pada kulit kepala untuk mempertahankan hidup. *Pediculus humanus capitis* dapat menyebabkan penyakit yang biasa dinamakan *Pedikulosis capitis*. *Pedikulosis capitis* dapat menginfeksi kulit dikepala dikarenakan higienitas yang tidak baik terutama di bagian rambut, seperti rambut yang terlalu lembab, jarang dirapikan dan jarang cuci rambut [Nurdiani \(2020\)](#). Kejadian *Pediculus humanus capitis* banyak menimpa anak-anak terutama perempuan. Perempuan beresiko lebih tinggi terkena kutu rambut daripada laki-laki dikarenakan perempuan mempunyai rambut yang lebih panjang serta sering menggunakan hiasan rambut [Elpira \(2019\)](#).

Dalam membantu untuk menegakkan diagnosis penyakit yang menginvasi ke manusia, maka perlu dilakukan pembuatan sediaan awetan yang berguna untuk melihat dan mengetahui morfologi yang ada pada ektoparasit sejenis *Pediculus humanus capitis*. Pembuatan sediaan awetan atau permanen serangga akan diawali dengan fiksasi atau perendaman dalam KOH yang berguna untuk menipiskan lapisan eksoskeleton, kemudian *dehidrasi* untuk penarikan molekul air, tahap *clearing* dilakukan untuk penjernihan, dan terakhir *mounting* untuk perekatan jaringan [Iswara & Nuroini \(2017\)](#).

Menurut [Fadli et al. \(2018\)](#) proses penipisan eksoskeleton pada serangga umumnya dilakukan dengan merendam spesimen pada basa kuat yaitu KOH 10% selama 24 jam. Namun menurut [Fatihyah \(2006\)](#) kurang efisien karena membutuhkan waktu yang lama, sehingga di butuhkan proses deprotenisasi yang dilakukan untuk memutuskan ikatan protein pada kitin, karena protein yang terdapat pada kitin dapat mempercepat tumbuhnya mikroorganisme pembusuk. Pembuatan sediaan kutu yang berwarna gelap dengan perendaman dalam KOH 10% yang dipanaskan dapat membuat warna kutu menjadi pudar atau coklat transparan. Perlakuan tersebut akan membantu dalam mengidentifikasi morfologi dari sediaan awetan. Semakin transparan sediaan maka semakin bagus dan semakin mudah dalam identifikasi spesimen [Karami \(2012\)](#).

Hasil penelitian lainnya dengan menggunakan sampel *Ctenocephalides felis* atau pinjal kucing dilakukan oleh [Nutong \(2018\)](#) dengan menggunakan perendaman KOH 10% yang dipanaskan pada suhu 80°C selama 30 menit didapatkan hasil yang lebih baik dibandingkan perendaman dengan KOH 10% selama 24 jam, yang mana eksoskeleton pada *Ctenocephalides felis* menjadi lebih tipis, kemudian pada bagian kepala, kaki, abdomen, spermateka terlihat utuh atau lengkap dan tidak ada bagian yang patah [Nutong \(2018\)](#).

Ketebalan spesimen dapat mempengaruhi kualitas sediaan, agar pada terlihat secara jelas bagian tubuh atau morfologi kutu saat diamati pada mikroskop. Indikator sediaan yang baik apabila morfologi terlihat terang, jernih, jelas tanpa ada sisa-sisa kitin, sedangkan sediaan yang buruk jika morfologi kutu masih belum terlihat jelas, kotor, tidak

transparan dan hitam karena masih ada lapisan kitin [Hidayani et al. \(2018\)](#). Dengan adanya hal ini perlu dilakukan penelitian dengan pembuatan sediaan awetan secara histologi terhadap sampel *Pediculus humanus capitis* atau kutu manusia dengan metode variasi suhu pemanasan di atas 60°C, 70°C, 80°C, 90°C sehingga dapat mengetahui mana kualitas sediaan yang bagus dengan dilihat berdasarkan tingkat transparan atau kejernihan, kualitas warna dan keutuhan morfologi.

## METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium STIKes Maharani Malang. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah *Pediculus humanus capitis* stadium dewasa dalam keadaan hidup, tubuh lengkap, memiliki ukuran tubuh yang tidak jauh berbeda karena bertujuan untuk memperoleh ketebalan kitin yang sama, karena ketebalan kitin yang tidak sama dapat menjadi perancu hasil dari penipisan kitin yang dilakukan pada tahap perendaman KOH 10%. Metode yang digunakan pembuatan sediaan awetan ini menggunakan metode *whole mount*. Metode ini digunakan untuk dapat melihat dengan jelas keseluruhan bagian organisme tanpa adanya pengirisan atau *sectioning*.

Pada pembuatan sediaan awetan melalui 4 tahapan yaitu *fiksasi* KOH 10 %, *dehidrasi* dengan Alkohol bertingkat, *clearing*, dan yang terakhir *mounting*. Pada tahap fiksasi terdapat 4 perlakuan yaitu specimen *Pediculus humanus capitis* direndam menggunakan KOH 10% dengan variasi suhu 60°C, 70°C, 80°C, 90°C selama 30 menit, kemudian dibilas dengan aquadest. Langkah selanjutnya pada tahap *dehidrasi* sampel di rendam dengan menggunakan Alkohol bertingkat, dimulai dari alkohol 50%, 70% dan 96% dengan menggunakan waktu perendaman masing-masing 15 menit. Kemudian dilanjutkan dengan penggencetan sampel menggunakan 2 object glass yang bertujuan agar cairan yang ada didalam tubuh *Pediculus humanus capitis* keluar. Selanjutnya pada tahap *clearing*, sampel dilakukan perendaman menggunakan larutan xylol selama 2 kali masing-masing 15 menit. Pada tahap terakhir yaitu *mounting*, sampel ditempatkan diatas object glass dan ditetaskan cairan entellan, kemudian ditutup menggunakan cover glass dan dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop perbesaran obyektif 4x.

Penilaian kualitas sediaan awetan melingkupi kualitas warna, kualitas kejernihan dan keutuhan morfologi. Dalam menilai kualitas sediaan awetan, peneliti memberikan rentang skor 1 sampai 3. Diberi skor 1 dengan kategori buruk, apabila kualitas sediaan tidak tampak jernih dan keutuhan sediaan awetan tidak lengkap. Skor 2 dengan kategori cukup baik, apabila tidak tampak jernih namun keutuhan sediaan awetan lengkap atau sebaliknya dan diberi skor 3 dengan kategori baik, apabila tampak jernih dan keutuhan sediaan awetan lengkap [Iswara & Nuroini \(2017\)](#).

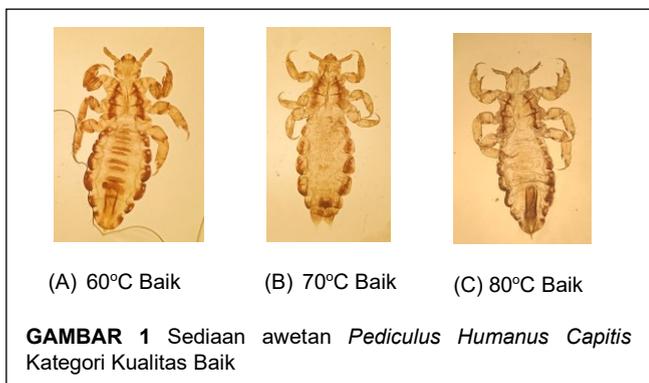
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian Berdasarkan hasil penelitian terhadap kualitas sediaan awetan *Pediculus humanus capitis* yang dilakukan dengan 4 perlakuan perendaman KOH 10% dengan pemanasan suhu 60°C, 70°C, 80°C, 90°C selama 30 menit diperoleh hasil pada Tabel 1.

**TABEL 1.** Frekuensi Hasil Kualitas Sediaan Awetan

| Perendaman<br>KOH 10% | Kualitas Sediaan Awetan |               |       | Total |
|-----------------------|-------------------------|---------------|-------|-------|
|                       | Baik                    | Cukup<br>Baik | Buruk |       |
| 60°C                  | 0                       | 4             | 2     | 6     |
| 70°C                  | 3                       | 3             | 0     | 6     |
| 80°C                  | 3                       | 2             | 1     | 6     |
| 90°C                  | 0                       | 3             | 3     | 6     |

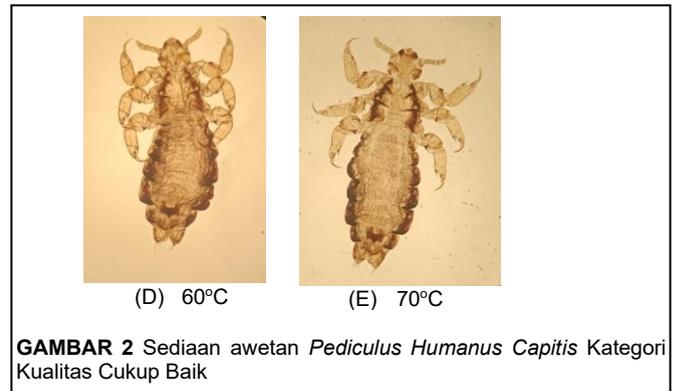
Berdasarkan Tabel 1 diatas menunjukkan bahwa perlakuan pemanasan suhu 60°C selama 30 menit diperoleh 4 sediaan yang cukup baik dan 2 sediaan baik. Perlakuan pemanasan suhu 70°C selama 30 menit diperoleh 3 sediaan yang baik dan 3 sediaan yang cukup baik. Perlakuan pemanasan suhu 80°C selama 30 menit diperoleh 1 sediaan baik, 2 sediaan cukup baik dan 3 sediaan buruk dan perlakuan pemanasan suhu 90°C selama 30 menit diperoleh 3 sediaan cukup baik dan 3 sediaan buruk.



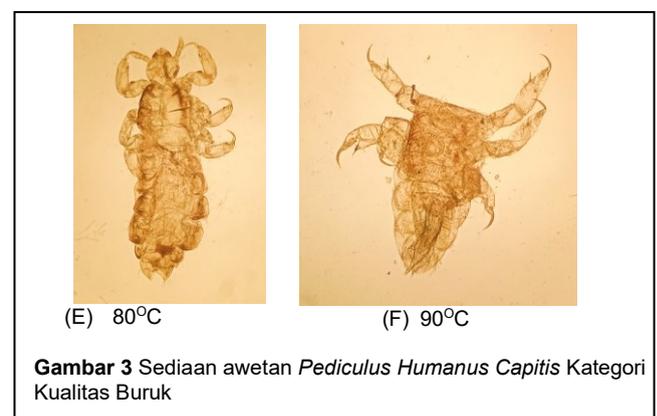
Penilaian kualitas sediaan awetan dengan perendaman KOH 10% yang dipanaskan dengan suhu 60°C, 70°C, 80°C selama 30 menit pada Gambar 1 menunjukkan hasil sediaan dengan kualitas baik dengan rentang skor 3. Berdasarkan gambar tersebut terlihat jernih yang menandakan eksoskeleton menipis dan morfologi tubuh terlihat utuh.

Berdasarkan dari hasil kualitas baik tersebut memungkinkan terjadinya protein yang ada pada kitin kehilangan strukturnya atau terdenaturasi sehingga terjadinya deproteinasi atau pelepasan protein pada kitin yang ada pada tubuh *Pediculus humanus capitis* terjadi secara sempurna. Hasil tersebut didukung dengan pendapat [Abdullah \(2017\)](#) bahwa pemanasan suhu tersebut menyebabkan hancurnya ikatan non-kovalen pada struktur protein tapi tidak memutuskan ikatan kovalennya yang

berupa ikatan peptida sehingga pemanasan suhunya dapat lebih baik.



Pada Gambar 2 menunjukkan hasil sediaan awetan dengan pemanasan suhu 60°C dan 70°C dikategorikan cukup baik dengan skor 2. Pada gambar tersebut sediaan terlihat utuh tetapi eksoskeleton masih tebal, sehingga sediaan terlihat gelap yang menunjukkan kitin belum menipis dengan baik. Pada variasi suhu 60°C didapatkan 4 sediaan masih terlihat gelap dan pada suhu 70°C hanya terdapat 3 sediaan yang terlihat gelap. Suhu 60°C menghasilkan sediaan gelap lebih banyak dibandingkan suhu 70°C, sehingga dimungkinkan suhu 60°C yang digunakan untuk fiksasi belum secara optimal dalam mendegradasi kitin yang ada pada tubuh *Pediculus humanus capitis* dibandingkan dengan suhu 70°C. Hasil tersebut sejalan dengan [Novia et al. \(2011\)](#) bahwa hal ini dikarenakan karena adanya pengaruh suhu, dimana semakin tinggi suhu pemanasan maka akan terjadi denaturasi protein yang mengakibatkan perubahan struktur protein oleh variasi suhu pemanasan yang terjadi secara berbeda-beda.



Kualitas sediaan yang buruk hanya di tunjukkan pada perendaman suhu 80°C dan 90°C dengan menghasilkan skor 1. Berdasarkan Gambar 3 tidak tampak menipisnya eksoskeleton serta morfologi tubuh terlihat tidak lengkap serta rapuh, sehingga tidak bagus untuk diamati. Bagian tubuh *Pediculus humanus capitis* yang terlepas dan tidak

jernih dapat mengakibatkan penurunan kualitas karena mengganggu pengamatan dalam tahap identifikasi.

Hal ini terjadi dikarenakan, larutan KOH yang digunakan untuk menipiskan kitin memberikan efek berlebihan jika terjadi pada suhu pemanasan yang terlalu tinggi. Akibat perendaman suhu yang tinggi tersebut, lapisan kitin menjadi terlalu tipis dan akhirnya merusak bagian tubuh *Pediculus humanus capitis*. Sediaan dengan hasil yang warna yang jernih dan transparan tetapi terdapat bagian tubuh yang terlepas akan mengurangi kualitas preparat.

Menurut penelitian *Iswara & Wahyuni (2017)* kriteria dikatakan utuh apabila sediaan tidak rapuh dan tidak ada bagian tubuh yang patah sehingga hasil akhir dari pembuatan sediaan akan bertahan lama. Morfologi yang tidak utuh disebabkan terlalu lama direndam dalam larutan KOH sehingga ion OH yang dihasilkan mampu merapuhkan anggota tubuh serangga *Sukatun, (2018)*. Hal ini juga mungkin terjadi karena adanya pemanasan yang terlalu tinggi selama pemanasan yang menyebabkan gesekan antara larutan KOH dengan anggota tubuh *Pediculus humanus capitis*.

Dari data penelitian secara keseluruhan, kemudian diolah menggunakan uji normalitas yang digunakan untuk mengetahui apakah data tersebut berdistribusi normal atau tidak berdistribusi normal. Pada suhu 60°C didapatkan  $p = 0,001$ , suhu 70°C didapatkan  $p = 0,004$ , pada suhu 80°C didapatkan  $p = 0,091$  dan pada suhu 90°C didapatkan  $p = 0,004$ . Dari hasil tersebut menunjukkan adanya 3 data yang tidak berdistribusi normal karena nilai  $p < 0,05$ . Data yang tidak berdistribusi normal kemudian dianalisis menggunakan uji Kruskal Wallis yang bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat pengaruh pada perlakuan suhu yang dilakukan.

Hasil uji Kruskal Wallis diperoleh nilai  $p = 0,040$  yang berarti nilai  $p < 0,05$ , sehingga pada penelitian ini dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat adanya pengaruh perendaman dengan pemanasan suhu terhadap kualitas *Pediculus humanus capitis*. Dari hasil rata-rata skor yang telah diperoleh dengan menggunakan skor penilaian, suhu yang paling efektif dalam proses fiksasi KOH 10% menggunakan pemanasan adalah pada suhu 70°C dengan nilai rata-rata 2,5. *Nurdiani (2020)*

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil uji Kruskal Wallis dengan nilai  $p = 0,040$  yang berarti nilai  $p < 0,05$ . Hal ini membuktikan bahwa proses fiksasi perendaman KOH 10% dengan dilakukan pemanasan suhu selama 30 menit memiliki pengaruh terhadap penipisan kitin yang ada pada sampel *Pediculus humanus capitis*. Pemanasan paling efektif didapatkan pada

suhu 70°C dengan hasil rerata yang didapatkan sebanyak 2,5.

## KONTRIBUSI PENULIS

Penulis pertama berperan dalam penyusunan serta pengumpulan data. Penulis kedua dan ketiga berperan dalam membantu serta mengarahkan penyusunan artikel.

## PENDANAAN

Penelitian ini menggunakan dana pribadi dari peneliti.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih Terimakasih kepada para pembimbing yang mengarahkan penulis dalam penyusunan penelitian dan pihak yang telah membantu dalam penelitian ini.

## REFERENSI

- Abdullah. (2017). Kualitas Sediaan Awetan *Pediculus humanus capitis* pada tiap Stadium terhadap Variasi Waktu dan Konsentrasi KOH. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah. Semarang. Semarang. Retrieved from <http://repository.unimus.ac.id/1634/>
- Elpira, R. (2019). Uji Efektifitas Bawang Merah (*Allium Ascalonicum L.*) Terhadap Kematian Kutu Rambut (*Pediculus humanus capitis*) sebagai penyebab Pedikulosis kapitis. *Skripsi*. Retrieved from <http://repository.poltekkes-kdi.ac.id/1008/1/cover.pdf>
- Fadli, A., Drastinawati, D., Alexander, O., & Huda, F. (2018). Pengaruh Rasio Massa Kitin/ NaOH Dan Waktu Reaksi Terhadap Karakteristik Kitosan Yang Disintesis Dari Limbah Industri Udang Kering. *Jurnal Sains Materi Indonesia*, 18(2), 61-67. doi : 10.17146/JSMI.2017.18.2.4166
- Fatihyah, S. R. (2006). Deproteinasi Kulit Udang Secara Fermentasi Menggunakan Isolat *Bacillus licheniformis* F11 pada Ekstraksi Kitin. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor. Retrieved from <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/3799>
- Hidayani, A., Ariyadi, T., & Iswara, A. (2018). Variasi Konsentrasi KOH dan Waktu Clearing Terhadap Kualitas Preparat Awetan Caplak (Tick). *Prosiding Seminar Nasional Mahasiswa Unimus Volume 1*, 151-156. Retrieved from <https://prosiding.unimus.ac.id/index.php/mahasiswa/article/view/140>
- Iswara, A., & Nuroini, F. (2017) Variasi Konsentrasi Koh Dan Waktu Clearing Terhadap Kualitas Preparat Awetan *Pediculus humanus capitis*. *In Prosiding Seminar Nasional & Internasional (Vol. 1, No. 1)*. Retrieved from <https://jurnal.unimus.ac.id/index.php/psn12012010/article/view/2842>
- Iswara, A., & Wahyuni, T. (2017). Pengaruh Variasi Waktu Clearing Terhadap Kualitas Sediaan Awetan Permanen *Ctenocephalides felis*. *Jurnal Labora Medika*, 1(1), 12–15. doi: <https://doi.org/10.26714/jlabmed.1.1.2017.12-15>
- Karami, M. (2012). Kutukebul (Hemiptera: Aleyrodidae) pada Tanaman Hortikultura di Wilayah Bogor. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor. Retrieved from <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/60095>
- Novia, D., Melia, S., & Ayuza, N. Z. (2011). Kajian Suhu Pengovenan Terhadap Kadar Protein Dan Nilai Organoleptik Telur Asin. *Jurnal Peternakan*, 8(2), 70 - 76. Retrieved from <https://ejournal.uinsuska.ac.id/index.php/peternakan/article/viewFile/200/186>
- Nurdiani, C. U. (2020). Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Pediculosis capitis Pada Anak-Anak Umur 6-12 Tahun Di Pondok Pesantren Sirojan Muataqim Dan Penduduk Rw 03 Kelurahan Pondok Ranggan Kecamatan Cipayang Jakarta Timur. *Anakes : Jurnal Ilmiah Analisis Kesehatan*, 6(1), 39–48. doi : 10.37012/ANAKES.V6I1.354

- Nutong, T. N. N. (2018). Perbandingan Koh 10% Dengan Pemanasan Dan Tanpa Pemanasan Terhadap Kualitas Preparat Awetan *Ctenocephalides felis*. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah. Semarang. Semarang. Retrieved from <http://repository.unimus.ac.id/2799/>
- Sukatoni, R. A. (2018). Optimasi Suhu Pemanasan Koh 10% Pada Pembuatan Preparat Permanen *Ctenocephalides felis*. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Semarang. Semarang. Retrieved from <http://repository.unimus.ac.id/3288/>

**Conflict of Interest Statement:** The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2022 Azizah, Mahtuti, and Faisal. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.