

PENGARUH VARIASI WAKTU PERENDAMAN ALKOHOL TERHADAP KUALITAS PREPARAT PERMANEN LARVA *Culex* *sp*

The Effect of Variations Alcohol Soaking Time on the Quality of Permanent Preparations Culex sp Larvae

Amanda Putri^{1*}, Yuliansyah Sundara Mulia², Sulaeman³, Wiwin Wiryanti⁴

^{1*} Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kemenkes Bandung, Email : amandaptr123@gmail.com

² Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kemenkes Bandung, Email : mysundara11@gmail.com

³ Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kemenkes Bandung. Email :

⁴ Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kemenkes Bandung, Email : wiwinwiryanti@yahoo.com

ABSTRACT

The permanent preparations for pathology or anatomy specimens includes soaking in 10% KOH, dehydration, clearing, and mounting. Dehydration aims to remove water from the specimen using graded concentrations of alcohol 30%, 50%, and 96%. Rapid dehydration may result an unclear preparate as the water is not completely removed, while prolonged alcohol soaking can cause a damage to the sample. This study aims to find the effect of alcohol soaking time variation on the quality of permanent preparations Culex sp larvae and to identify the optimal alcohol soaking time for produce a good-quality permanent preparation. The research used a quasi-experimental design with variations of alcohol soaking time 1x15 minutes, 2x15 minutes, and 3x15 minute in each level. The results of this study indicate that preparations with alcohol soaking time in 1x15 minutes are better than permanent preparations in 2x15 minutes and 3x15 minutes.. In conclusion, this research demonstrates that varying soaking times in alcohol do affect the quality of permanent preparations of Culex sp larvae, with the optimum soaking time for producing good-quality permanent preparations being 1x15 minutes.

Key words: dehydration, alcohol, time variations, permanent preparations

ABSTRAK

Pembuatan preparat permanen untuk berbagai macam kelompok parasite meliputi perendaman KOH 10%, dehidrasi, *clearing*, dan terakhir *mounting*. Dehidrasi bertujuan mengeluarkan cairan dari spesimen menggunakan alkohol bertingkat 30%, 50% dan 96%. Proses dehidrasi yang terlalu cepat dapat menyebabkan preparat menjadi tidak jelas karena cairan belum sepenuhnya dikeluarkan, namun perendaman alkohol yang terlalu lama dapat menyebabkan kerusakan pada sampel. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh variasi waktu perendaman alkohol terhadap kualitas preparat permanen larva *Culex sp* dan waktu yang optimum pada perendaman dengan alkohol dalam menghasilkan kualitas preparat permanen yang baik. Penelitian ini merupakan penelitian kuasi eksperimen dengan menggunakan variasi waktu perendaman alkohol masing-masing tingkatan 1x15 menit, 2x15 menit dan 3x15 menit. Hasil penelitian ini menunjukkan variasi waktu 1x15 menit menghasilkan preparat permanen lebih baik dibandingkan variasi waktu 2x15 menit dan 3x15 menit. Hasil dari penelitian ini disimpulkan bahwa terdapat pengaruh variasi waktu perendaman dengan alkohol terhadap kualitas preparat permanen larva *Culex sp* dan waktu optimum yang menghasilkan kualitas preparat permanen larva *Culex sp* yang baik yaitu waktu 1x15 menit.

Kata kunci: dehidrasi, alkohol, variasi waktu, preparat permanen

PENDAHULUAN

Jenis nyamuk yang sering ditemukan di sekitar kita adalah nyamuk genus *Culex*. Nyamuk ini dikenal sebagai pembawa penyakit yang dapat menyebabkan masalah kesehatan, mengganggu kehidupan manusia, serta menyebabkan entomopobia, dermatitis, dan urtikaria.¹

Pembuatan preparat permanen diperlukan untuk mengenali dan mengidentifikasi morfologi parasit seperti larva *Culex sp.* Sediaan preparat merupakan proses persiapan spesimen patologi atau anatomi yang diawetkan untuk keperluan penelitian dan pemeriksaan.²

Tahapan pembuatan sediaan preparat meliputi perendaman dengan Kalium hidroksida (KOH) 10%, dehidrasi, *clearing*, dan *mounting*.³ Tahapan dehidrasi memiliki peran penting dengan tujuan untuk mengeluarkan cairan dari spesimen tanpa merusak struktur atau komponennya. Spesimen direndam dalam agen dehidrator (penarik air) berupa alkohol dengan konsentrasi meningkat secara progresif, yaitu 30%, 50%, dan 96%.⁴

Reagen dehidrasi bersifat hidrofilik (suka air) dan memiliki kutub yang kuat berinteraksi dengan molekul air melalui hidrogen sehingga dapat mengeluarkan air dari spesimen.⁵

Lama waktu perendaman dapat mempengaruhi penetrasi alkohol ke dalam sampel dan keutuhan struktur sampel. Perendaman dengan alkohol dalam proses dehidrasi yang terlalu singkat dapat mempengaruhi proses pembacaan mikroskopis karena cairan belum sepenuhnya dikeluarkan, sehingga preparat tidak terlihat dengan jelas. Sebaliknya, perendaman dengan alkohol yang terlalu lama menyebabkan perubahan drastis seperti mengeras, menyusut, dan merusak keutuhan organ pada sampel.⁶

Dari penelitian sebelumnya telah menguji variasi waktu perendaman dengan alkohol 1x15 menit, 2x15 menit,

dan 3x15 menit pada *Ctenocephalides canis*, dengan hasil menunjukkan bahwa perendaman selama 1x15 menit lebih dianjurkan karena memiliki presentase kerusakan terendah dibandingkan variasi waktu lainnya.⁷

Oleh karena itu, penelitian mengenai waktu perendaman dengan alkohol pada larva *Culex sp* menjadi penting untuk dilakukan. Sebelumnya, penelitian lebih fokus pada parasit yang berbeda dan pada stadium dewasa, sehingga penelitian yang khusus berfokus pada stadium larva *Culex sp* sangat diperlukan.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh variasi waktu perendaman dengan alkohol 1x15 menit, 2x15 menit, dan 3 x15 menit terhadap kualitas preparat permanen larva *Culex sp* serta untuk mengetahui waktu yang optimum antara 1x 15 menit, 2x15 menit, dan 3x15 menit pada perendaman dengan alkohol untuk menghasilkan kualitas preparat permanen larva *Culex sp* yang baik.

METODE

Jenis penelitian ini merupakan *quasy experiment* dengan desain penelitian yaitu *Static Group Comparison* untuk mengetahui pengaruh variasi waktu perendaman dengan alkohol terhadap kualitas preparat permanen larva *Culex sp*. Variasi waktu perendaman yang digunakan adalah 1x15 menit, 2x15 menit, dan 3x15 menit.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasitologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Bandung pada bulan Februari - Maret 2023. Sampel yang digunakan adalah 45 ekor larva *Culex sp* instar III, yang dipilih karena ukurannya cukup besar dan sesuai dengan standar WHO.⁸ Sampel akan dijadikan preparat dengan variasi waktu perendaman masing-masing terdiri dari 15 ekor.

Data penelitian diperoleh melalui pengamatan morfologi struktur preparat permanen larva *Culex sp* secara

mikroskopis. Data tersebut dinilai berdasarkan skor terhadap kriteria penilaian yang mencakup kejernihan dan keutuhan preparat permanen. Pengamat memberikan skor 1 jika kejernihan atau keutuhan preparat tidak baik atau salah satunya tidak baik, dan skor 2 jika kejernihan dan keutuhan preparat baik. Selanjutnya, data tersebut di analisis menggunakan uji *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui apakah ada pengaruh yang signifikan antara waktu perendaman 1x15 menit,

2x15 menit, dan 3x15 menit terhadap kualitas preparat larva *Culex sp*.

HASIL

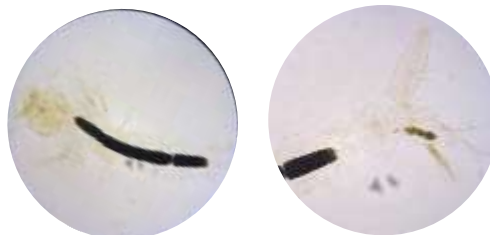
Pada penelitian ini terdapat 3 macam perlakuan variasi waktu terhadap sampel, yaitu perlakuan waktu 1x15 menit, perlakuan waktu 2x15 menit, dan perlakuan waktu 3x15 menit. Total sampel yang digunakan adalah 45 sampel, dengan masing-masing perlakuan terdiri dari 15 sampel.

Tabel 1. Hasil Preparat Permanen Larva *Culex sp* Pada Perlakuan Variasi Waktu Perendaman Dengan Alkohol

Variasi Waktu Perendaman dengan Alkohol	Kualitas Sediaan		Total
	Baik	Tidak Baik	
1x15 menit	13	2	15
2x15 menit	10	5	15
3x15 menit	6	9	15
Total	29	16	45

Tabel 1 menunjukkan bahwa preparat permanen larva *Culex sp* pada perlakuan waktu perendaman dengan alkohol 1x15 menit diperoleh 13 preparat dengan kualitas baik dan 2 preparat dengan kualitas tidak baik. Pada waktu 2x15 menit diperoleh 10

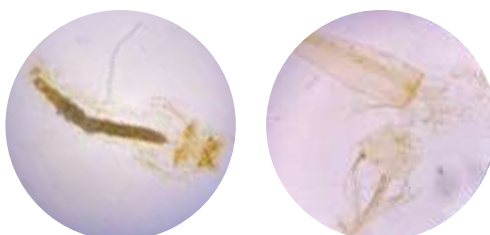
preparat dengan kualitas baik dan 5 preparat dengan kualitas tidak baik/ Sementara pada waktu 3x15 menit didapatkan 6 preparat dengan kualitas baik dan 9 preparat dengan kualitas buruk.



Gambar 1. Preparat Permanen larva *Culex sp* Perlakuan Waktu 1x15 menit

Gambar 1 menunjukkan hasil preparat permanen larva *Culex* dengan skor 2 yaitu kualitas baik. Hal ini terlihat

dari kejernihan dan keutuhan bagian tubuh larva *Culex sp* yang lengkap.



Gambar 2. Preparat Permanen larva *Culex sp* Perlakuan Waktu 2x15 menit

Gambar 2 juga menunjukkan hasil preparat permanen larva *Culex sp* dengan skor 2 yaitu kualitas baik dengan skor 2 yaitu kualitas baik. Hal ini terlihat

dari kejernihan dan keutuhan sediaan preparat permanen larva *Culex sp* yang baik.



Gambar 3. Preparat Permanen larva *Culex sp* Perlakuan Waktu 3x15 menit

Gambar 3 menunjukkan hasil preparat permanen larva *Culex* dengan skor 1 yaitu kualitas tidak baik. Hal ini terlihat bahwa sediaan preparat permanen larva

Culex sp tidak memiliki kejernihan yang baik dan tidak utuh pada bagian tubuhnya.

Tabel 2. Uji *Kruskal-Wallis*

Test Statistics ^{a,b}	
	Skor
Chi-Square	7.017
df	2
Asymp. Sig.	.030

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Perlakuan

Dari hasil tabel 2 uji *Kruskal Wallis* didapatkan bahwa nilai Asymp. Sig yaitu 0.030, dimana $0.030 < 0.05$ yang menunjukkan adanya pengaruh variasi waktu 1x15 menit, 2x15 menit, dan 3x15 menit terhadap kualitas preparat permanen larva *Cukex sp*.

PEMBAHASAN

Dalam pembuatan sediaan preparat dengan kualitas yang baik, waktu perendaman dalam alkohol juga merupakan faktor penting. Perendaman yang cukup lama memungkinkan alkohol meresap ke dalam jaringan, menghilangkan air secara efektif, dan mempertahankan struktur sampel dengan baik. Namun, perendaman yang terlalu lama dapat menyebabkan kerusakan atau deformasi pada struktur spesimen.⁹

Dari penelitian yang telah dilakukan, waktu perendaman dengan alkohol

memiliki pengaruh terhadap kualitas preparat permanen. Waktu perendaman yang tepat akan mengoptimalkan pengeluaran air dari spesimen, namun jika waktu perendaman terlalu lama juga dapat menyebabkan penyusutan yang mengakibatkan tidak utuhnya bagian-bagian tubuh preparat. Penyusutan spesimen dalam pembuatan sediaan mikroskopis dapat berdampak pada keutuhan preparat tersebut. Ketika preparat mengalami penyusutan, artinya terjadi pengurangan volume atau ukuran sampel, hal ini dapat mengakibatkan deformasi atau perubahan bentuk struktur jaringan yang diamati, seperti patahnya bagian tubuh tertentu pada spesimen atau deformasi struktur yang dapat mempengaruhi keutuhan preparat.¹⁰

Alkohol dalam preservasi spesimen dapat menyebabkan efek shrinking atau penyusutan yang dapat merusak

struktur mikroanatomi.¹¹ Waktu perendaman dengan alkohol yang terlalu lama dapat menyebabkan penyusutan atau *shrinking* pada spesimen. Hal ini terjadi karena alkohol memiliki daya tarik yang kuat terhadap air, sehingga menarik air keluar dari spesimen dan menyebabkan jaringan menjadi kering. Efek *shrinking* yang disebabkan oleh alkohol dapat mengakibatkan perubahan ukuran dan bentuk spesimen. Penyusutan jaringan ini juga dapat menyebabkan deformasi atau kerusakan struktur spesimen, sehingga mengganggu pengamatan dan analisis mikroskopis.¹² Oleh karena itu, waktu perendaman dengan alkohol pada variasi waktu 2x15 menit dan 3x15 menit lebih banyak menghasilkan preparat permanen dengan kualitas yang tidak baik dibandingkan dengan variasi waktu 1x15 menit yang disebabkan oleh waktu perendaman dengan alkohol yang terlalu lama.

Selain itu, tahap dehidrasi dalam pembuatan preparat permanen memiliki pengaruh terhadap kejernihan kualitas preparat. Karena proses dehidrasi bertujuan untuk mengeluarkan air dari spesimen. Apabila proses dehidrasi tidak sempurna yang disebabkan masih adanya molekul air dalam spesimen, ketidaksempurnaan proses dehidrasi ini dapat diketahui dengan jelas setelah jaringan dimasukkan ke dalam zat penjernih, dimana jaringan tidak menjadi transparan walaupun jaringan telah lama dalam larutan penjernih.² Hal ini dapat menyebabkan kekeruhan pada preparat, yang mengurangi kejelasan visual dan dapat mengganggu pengamatan mikroskopis.

Ukuran parasit pada larva instar III juga dapat mempengaruhi tahap perendaman dengan alkohol. Larva *Culex sp* memiliki ukuran sekitar 4-5 mm.¹³ Seperti pada perlakuan waktu perendaman dengan alkohol selama 1x15 menit yang masih terdapat preparat yang mendapatkan skor 1, dimana preparat memiliki kejernihan yang baik dan keutuhan yang tidak baik akibat penyusutan. Hal ini dapat

disebabkan oleh spesimen larva *Culex sp* dengan ukuran yang kecil sehingga memerlukan waktu perendaman yang lebih singkat lagi agar alkohol tidak menghilangkan air secara berlebihan.¹⁴ Begitu juga dengan perlakuan 2x15 menit dan 3x15 menit, pada waktu tersebut meskipun lebih lama dari waktu 1x15 menit terdapat preparat yang mendapatkan skor 2. Hal tersebut berarti pada ukuran larva *Culex sp* yang lebih besar memerlukan waktu yang lebih lama pada perendaman dengan alkohol agar lebih optimal mengeluarkan air pada spesimen sehingga tidak terjadi penyusutan.

Pada penelitian ini menggunakan sampel larva *Culex sp* yang memiliki struktur morfologi yang berbeda dengan jenis parasit pada penelitian sebelumnya yang menggunakan stadium dewasa. Sifat struktural larva yang lunak menjadi faktor kerentanan terhadap kerusakan fisik selama proses pembuatan sediaan preparat permanen. Oleh karena itu, pada proses pembuatan preparat permanen yang melibatkan tahap dehidrasi untuk menghilangkan air dari jaringan larva jika dehidrasi berlebihan dapat menyebabkan penyusutan, kerusakan struktural, atau deformasi pada larva karena kurang kerasnya struktur dari larva. Larva juga tidak memiliki penutup pelindung seperti cangkang yang dapat melindungi mereka dari kerusakan fisik.¹⁵

SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan terdapat pengaruh variasi waktu perendaman dengan alkohol antara waktu 1x15 menit, 2x15 menit, dan 3x15 terhadap kualitas preparat permanen larva *Culex sp*. Selain itu, didapatkan waktu yang optimum pada perendaman dengan alkohol yang menghasilkan kualitas preparat permanen larva *Culex sp*.

DAFTAR RUJUKAN

1. Sholichah Z. Ancaman dari Nyamuk *Culex* sp yang Terabaikan. *Balaba J Litbang Pengendali Penyakit Bersumber Binatang Banjarnegara*. 2009;5(1):21-23.
2. Hayati WOSZ. Perbandingan Kualitas Preparat Awetan *Ctenocephalides canis* pada Proses Dehidrasi Menggunakan Air Tapai Ketan Putih dan Etanol. *Repostory Univ Muhammadiyah Semarang*. Published online 2018.
3. Soedarto. *Buku Ajar Parasitologi*. Jakarta: Sagung Seto; 2011.
4. Pratiwi HC, Manan A. Teknik Dasar Histologi pada Ikan Gurami (*Osporonemus gouramy*). *J Ilm Perikan dan Kelaut*. 2015;7(2):153-158.
5. Nelson DL, Cox MM. *Lehninger Principles of Biochemistry*. 4th Ed. W.H. Freeman and Company; 2008.
6. Miranti IP. Pengolahan Jaringan Untuk Penelitian Hewan Coba. *Media Med Muda*. Published online 2010:1-4.
7. Anisah AA. Variasi Waktu Perendaman Alkohol pada Preparat Awetan *Ctenocephalides canis*. *Repostory Universitas Muhammadiyah Semarang*; 2019
8. WHO. Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvacides. Published online 2005.
9. Kiernan JA. *Histological and Histochemical Methods - Theory and practice*. *Eur J Histochem*. 2016;54(1):155-197. doi:10.4081/ejh.2016.2639
10. Isaac UE, Oyo-ita E, Igwe NP, Ije EL. Preparation of Histology Slides and Photomicrographs : Indispensable Techniques in Anatomic Education. 2023;12(1):2252-2262.
11. Nuralim ER, Rahayu ID, Bekti RS. Analisis Perbandingan Fiksasi Menggunakan Larutan Formalin dan Larutan Carnoy pada Somit, Neural Tube, dan Vaskular Embrio Ayam Usia 48 Jam dengan Pewarnaan Hematoxylin-Eosin. *Maj Kesehatan FKUB*. 2017;4(1):9-16.
12. Suvarna SK, Layton C, Bancroft JD. *The Theory and Practice of Histological Techniques*.; 2013. doi:10.1016/s0031-3025(16)35811-1
13. Chatterjee KD. *Parasitology : Protozoology and Helminthology*. Academic Publishers; 2014.
14. Ghosh S. *Paniker 's Textbook of Medical Parasitology*. Jaypee Brothers Medical Publishers; 2013.
15. Chapman RF. *The Insects: Structure and Function*.; 1998. doi:10.1017/cbo9780511818202.007