



## Variasi Konsentrasi KOH dan Waktu Clearing Terhadap Kualitas Preparat Awetan Caplak (Tick)

### *Variation Concentration of KOH and Clearing Time on The Quality of Microscope Prepared Slide Caplak (Tick)*

Al Hidayani, Tulus Ariyadi, Arya Iswara  
Universitas Muhammadiyah Semarang

#### Abstrak

Sediaan/preparat adalah spesimen yang diletakkan atau dioleskan dipermukaan gelas objek atau slides, dengan pewarnaan atau tanpa menggunakan pewarnaan, yang selanjutnya dapat diamati dibawah mikroskop. Sediaan awetan caplak dibuat dengan variasi konsentrasi KOH dan waktu clearing bertujuan agar mendapatkan sediaan dengan kualitas baik, kualitas preparat sediaan dengan kualitas baik saat pengamatan akan terlihat morfologi dan bentuknya serta terlihat jernih/transparan. Pembuatan sediaan dibutuhkan beberapa teknik yang diawali dengan perendaman dengan larutan KOH selama 24 jam yang bertujuan untuk menipiskan lapisan kitin penyusun eksoskeleton pada ektoparasit, kemudian proses dehidrasi untuk menghilangkan air didalam tubuh caplak, proses clearing untuk menarik alkohol keluar dan proses mounting. Tujuan penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi KOH dan waktu *Clearing* terhadap kualitas preparat awetan caplak. Jenis penelitian ini adalah eksperimen karena dilakukan untuk mengetahui kualitas preparat awetan caplak dengan variasi konsentrasi KOH dan waktu *Clearing*. Sampel diperoleh dari peliharaan warga desa di Muara Teweh, Kalimantan Tengah, kemudian sampel dilakukan pembuatan preparat dengan merendam dengan larutan KOH 5% dan 10% selama 24 jam. Dan *clearing* menggunakan xylol dengan waktu 5 menit, 15 menit, 25 menit dan 60 menit di masing- masing konsentrasi KOH. Hasil penelitian menunjukkan hasil yang bervariasi pada preparat yang diberi perlakuan variasi konsentrasi KOH dan variasi waktu clearing, kualitas buruk didapat pada semua variabel waktu clearing pada konsentrasi KOH 5%. Hasil dengan kualitas baik didapat pada semua kombinasi antara variabel waktu clearing pada konsentrasi KOH 10%. Penelitian ini menunjukkan bahwa teknik yang baik pembuatan permanen caplak yaitu dengan kombinasi variabel konsentrasi KOH 10% dan waktu clearing 5 menit, 15 menit, 25 menit dan 60 menit.

**Kata kunci:** preparat awetan, variasi konsentrasi KOH, variasi waktu *clearing*

#### Abstract

*Microscope prepared slide is the specimens that are placed or smeared on the surface of objects glass, which is stained or unstained, which can be observed under a microscope. Microscope prepared slide made with variation of KOH concentration and clearing time purpose to get the microscope prepared slide with good quality. The good quality of microscope prepared slide determine the morphology/shape of tick and transparent. Microscope prepared slide of tick required several techniques that began with soaking with KOH solution for 24 hours which is purposed to attenuate the chitin layer in the ectoparasite, then dehydrate to remove water in the tick body, clearing process to pull the alcohol out and the mounting process. The purpose of this study was conducted to determine the effect of variations in KOH concentration and Clearing time on the quality of microscope prepared slide preserved ticks. This type of research is an experiment because it is done to determine the quality of preparations preserved by ticks with variations in KOH concentration and Clearing time. Samples were obtained from Muara Teweh, Central Kalimantan, then the samples were prepared by soaked to 5% KOH solution and 10% for 24 hours. And clearing uses xylol with 5 minutes, 15 minutes, 25 minutes and 60 minutes in each KOH concentration. The results showed varied results in the preparations treated with variations in KOH concentration and variation in clearing time, poor quality was obtained in all clearing time variables at 5% KOH concentration. Good quality results were obtained for all combinations of clearing time variables at 10% KOH concentration. This study shows that a good technique of permanent manufacture of ticks is a variable combination of 10% KOH concentration and 5 minutes clearing time, 15 minutes, 25 minutes and 60 minutes.*

**Keywords:** *Microscope prepared slide, KOH concentration variation, clearing time variation*



## PENDAHULUAN

Caplak adalah ektoparasit penghisap darah yang mempunyai peran penting dalam bidang kesehatan hewan. Penyebaran caplak diseluruh dunia sangat luas dan umumnya terdapat didaerah teritorial meliputi hutan, rawa, gunung, dan padang rumput (Levine 1994).

Pembuatan preparat awetan ektoparasit sangat penting dan perlu dilakukan oleh tenaga laboratorium, dapat digunakan untuk mengamati morfologi dari jenis ektoparasit yang dapat menginvasi ke manusia. Dengan adanya sediaan permanen diharapkan dapat menambah pengetahuan tentang isi atau organisme yang ada pada sediaan tersebut dan dapat menambah keterampilan dalam pembuatan sediaan permanen dibidang kesehatan, karena pembuatan sediaan dengan kualitas yang baik sangat penting bagi tenaga laboratorium agar mendapat hasil yang akurat. Dalam pembuatan sediaan permanen ektoparasit, dibutuhkan beberapa teknik yang harus dilakukan. Teknik tersebut diawali dengan perendaman dalam KOH 10% selama 1-10 jam tergantung tebalnya lapisan kitin kulit serangga, proses dehidrasi, proses *clearing*, dan terakhir proses *mounting* (Soedarto, 2008). Pada metode ini dilakukan tahap perendaman menggunakan larutan KOH, perendaman ini bertujuan untuk menipiskan lapisan kitin yang menyusun eksoskeleton agar didapat hasil yang berkualitas baik (Soedarto, 2011).

Ektoparasit memiliki ketebalan kitin yang berbeda pada setiap stadium (Woolley, 1988) sehingga pembuatan preparat untuk identifikasi juga berbeda. Kualitas preparat dapat dilihat berdasarkan tebal tipisnya eksoskeleton. Preparat yang baik ditandai dengan eksoskeleton yang telah tipis, sedangkan preparat yang kualitas buruk ditandai dengan eksoskeleton yang masih tebal.

Komponen utama penyusun eksoskeleton arthropoda yaitu kitin yang merupakan komponen alami kedua terbanyak setelah selulosa. Ukuran molekul kitin relatif besar, kitin tidak dapat larut dalam air. Penggunaan KOH sebagai larutan penipisan eksoskeleton karena kalium hidroksida merupakan larutan basa kuat yang tidak bewarna dan berbau. Larutan basa kuat dapat digunakan untuk deproteinasi. Proses deproteinasi merupakan proses menghilangkannya kadar protein dengan alkali encer. Ikatan peptida yang menghubungkan asam-asam amino pada molekul protein akan diputus dengan reaksi hidrolisis. Reaksi hidrolisis ini akan memecah ikatan peptida dan protein menjadi asam amino yang lebih sederhana. Kitin pada serangga yang berikatan dengan protein akan dipecah ikatan peptida, pecahnya ikatan peptida akan menyebabkan lapisan kitin eksoskeleton menipis.

Pembuatan preparat yang dilakukan dengan membuat variasi konsentrasi KOH bertujuan agar menipiskan kitin pembentuk eksoskeleton agar didapatkan hasil preparat dengan kualitas yang baik (Soedarto, 2011). Tebal tipisnya sediaan mempengaruhi kualitas sediaan agar pada saat diamati pada mikroskop terlihat bagian tubuh atau morfologi caplak. Indikator sediaan yang baik apabila morfologi terlihat jelas tanpa ada sisa-sisa kitin, sedangkan sediaan yang buruk jika morfologi caplak masih belum terlihat jelas karena masih ada lapisan kitin.

Dalam proses pembuatan preparat utuh yang juga penting adalah proses *clearing* atau penjernihan menggunakan larutan *xylol*. *Clearing* merupakan proses yang bertujuan untuk melihat struktur preparat terlihat jelas dan transparan saat diamati dibawah mikroskop. Pembuatan preparat yang dibuat dengan variasi waktu *clearing*, proses *clearing* bertujuan untuk mendesak keluar alkohol dari dalam tubuh caplak karena proses dehidrasi menggunakan alkohol bertingkat agar sediaan terlihat jernih dan transparan pada saat diamati, sehingga dalam pengamatan akan mengetahui secara jelas ciri morfologi, struktur tubuh dan bagian-bagian dari caplak. Tanpa proses *clearing* dapat menjadikan sediaan awetan tidak bertahan lama, spesimen akan menjadi gelap, kotor dan tidak jernih. Waktu *clearing* sangat berpengaruh pada proses ini karena dapat berdampak terhadap kualitas sediaan menjadi tidak jelas, buram, dan mudah rusak. Indikator sediaan yang dikatakan baik apabila terlihat jernih,



terang dan jelas morfologi nya, sedangkan sediaan yang dikatakan buruk apabila terlihat kotor, tidak transparan dan berwarna hitam.

Eksoskeleton pada caplak memiliki lapisan kitin yang tebal dan keras, seperti pada hewan kucing atau anjing. Berdasarkan praktikum yang pernah dilakukan, penipisan eksoskeleton masih ada yang tampak tebal dan tampak tipis, ada yang terlihat kurang jernih dan ada yang tampak jernih karena sediaan masih mengandung alkohol. Untuk mendapat hasil pengamatan yang baik, preparat awetan yang dibuat harus memiliki kualitas yang baik seperti ketipisan sampel, kejernihan dan keutuhan sampel yang akan diteliti. Oleh sebab itu, dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai variasi konsentrasi KOH dan juga waktu *clearing*.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan caplak pada anjing, yang direndam dengan variasi konsentrasi KOH 5% dan 10% dan variasi waktu *clearing* 5, 15, 25 dan 60 menit. Percobaan dilakukan dengan melakukan pengulangan sebanyak 6 kali pada kombinasi variabel variasi konsentrasi KOH dan variasi waktu *clearing*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah caplak anjing. Gambaran kondisi caplak yang akan digunakan untuk uji coba dalam kondisi baik dengan jumlah 55 ekor dan yang digunakan untuk bahan uji berjumlah 48.

Tabel 1:

Hasil rata-rata skoring kualitas sediaan caplak berdasarkan konsentrasi KOH dan lama waktu *clearing*

Variasi waktu <i>clearing</i>	Konsentrasi KOH	
	5%	10%
5'	5,5	7,8
15'	4,6	7,8
25'	5,1	7,6
60'	3,8	7,6

Berdasarkan tabel 1. Hasil penelitian menunjukkan hasil yang bervariasi pada preparat yang diberi perlakuan variasi konsentrasi KOH dan variasi waktu *clearing*, kualitas buruk didapat pada semua variabel waktu *clearing* pada konsentrasi KOH 5%. Hasil baik dari kombinasi waktu *clearing* dan KOH 10%. Kualitas sediaan awetan permanen caplak anjing diketahui dengan menilai kejernihan, keutuhan serta warna sediaan. Sediaan dikatakan jernih apabila diamati dibawah mikroskop terlihat terang dan jelas, sedangkan sediaan dengan warna yang baik akan terlihat lebih terang dan tidak keruh/berwarna hitam.

Gambar 1:

Hasil pengamatan hasil warna dan kejernihan dengan kualitas buruk pada kombinasi variabel KOH 5% dengan waktu *clearing* 5 menit.



Sumber: Dokumentasi Pribadi

Gambar 2:

Hasil pengamatan hasil warna dan kejernihan dengan kualitas baik pada kombinasi variabel KOH 10% dengan waktu clearing 15 menit



Sumber: Dokumentasi Pribadi

Gambar 3:

Hasil pengamatan warna dan kejernihan dengan kualitas sedang pada kombinasi variabel konsentrasi KOH 10% dengan waktu clearing.



Sumber : Dokumentasi Pribadi

## Pembahasan

Data dari hasil yang didapat bervariasi pada variasi konsentrasi KOH dan variasi waktu clearing. Hasil kualitas buruk didapat pada kombinasi variabel KOH 5% dengan seluruh variasi waktu clearing. Hasil dengan kualitas baik didapat pada kombinasi variabel konsentrasi KOH 10% pada waktu clearing 15 menit, 25 menit, dan 60 menit. Hasil tidak terpaut jauh antara waktu clearing 15 menit, 25 menit dan 60 menit pada konsentrasi KOH 10%, maka waktu 15 menit sudah cukup untuk menjernihkan awetan caplak, tidak perlu waktu clearing yang lama.

Dalam pembuatan preparat awetan tahap untuk melepaskan eksoskeleton dari caplak atau ektoparasit lain digunakan konsentrasi KOH 10%, karena didapat hasil yang sempurna dalam penipisan kitin. Sesuai dengan yang telah dianjurkan dalam tahap pembuatan preparat awetan.

Penggunaan konsentrasi KOH 5% dalam tahap penipisan eksoskeleton kurang bagus karena kitin yang menyusun eksoskeleton tidak tipis sempurna, hal ini dikarenakan kitin yang menjadi komponen utama penyusun eksoskeleton serangga ini berikatan dengan protein. Untuk proses deproteinasi untuk memecah ikatan protein pada kitin diperlukan larutan basa kuat. Kitin tidak larut didalam air, tingkat kekerasan dan fleksibilitas kitin berbeda-beda pada setiap jenis ektoparasit. (Pratiwi, 2015). Hal ini juga dapat terjadi karena kesalahan dalam



pemilihan caplak, yang diambil tidak memperhatikan umur dan ukuran. Umur caplak yang berbeda akan memiliki ketebalan kitin yang berbeda. Pada saat pertumbuhan caplak eksoskeleton tubuh menjadi lebih baru dan lebih tebal lagi (Hadi, 2009).

Clearing merupakan proses penjernihan jaringan menggunakan larutan xylol yang dapat mendesak keluar larutan alkohol dari tubuh caplak dan menggantikan suasana tubuh caplak dengan larutan xylol. Clearing yang belum sempurna membuat tubuh caplak masih mengandung air, sehingga tidak dapat memperlihatkan struktur tubuh dari morfologi caplak secara jelas (Sumanto, 2014).

Penelitian ini didapat hasil sediaan dengan kualitas buruk pada kombinasi variabel waktu clearing 5 menit 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 waktu clearing 25 dan 60 menit pada seluruh variasi KOH. Hasil kualitas yang baik disertai dengan peningkatan dan penurunan nilai skoring. (Iswara & Nuroini, 2017). Sediaan awetan dengan kombinasi konsentrasi KOH 10% dengan waktu clearing 5 menit sudah terlihat cukup jernih, hal ini mungkin terjadi karena perbedaan struktur tubuh maupun tebal dan tipisnya eksoskeleton dari caplak yang berbeda.. Dan pada kombinasi konsentrasi KOH 5% dengan waktu clearing 25 menit dan 60 menit didapat hasil yang buruk karena sediaan masih terlihat kotor. Hal ini juga bisa terjadi kesalahan dalam pengerjaan oleh peneliti, karena kurang dalam pengepresan sehingga tubuh caplak masih mengandung air. Dalam buku ajar Parasitologi Klinik oleh Soedarto, dijelaskan bahwa tahapan untuk membuat sediaan permanen dilakukan proses penipisan dengan larutan KOH 10% selama 1-10 jam (tergantung tebalnya pigmen kulit serangga) dan proses clearing dengan larutan xylol dengan waktu 10 menit.

Sediaan awetan permanen yang dibuat dengan kombinasi variabel konsentrasi KOH 10% pada waktu clearing 25 menit dan 60 menit menunjukkan terjadinya penurunan skoring, sebab terlihat dari beberapa bagian tubuh caplak ada yang robek. Hal ini dapat mengakibatkan penurunan kualitas preparat. Perendaman menggunakan xylol jika terlalu lama dapat merapuhkan jaringan, menyebabkan jaringan menjadi kering, rapuh, dan mudah sobek sehingga hasil akhir dari pembuatan sediaan awetan tidak bertahan lama (Prawiranegara, 2015).

## KESIMPULAN

Untuk membuat sediaan permanen awetan caplak disarankan menggunakan perendaman dengan konsentrasi KOH 10% sesuai anjuran yang ada di buku ajar, dan waktu clearing dapat dengan waktu 15 menit atau 25 menit sudah cukup untuk proses penjernihan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Hadi, M 2009. Biologi Insekta Entomologi. Graha Ilmu. Yogyakarta.
- Iswara, A., & Nuroini, F. (2017). Variasi Konsentrasi Koh Dan Waktu Clearing Terhadap Kualitas Preparat Awetan Pediculus humanus capitis. *Prosiding Seminar Nasional Publikasi Hasil-Hasil Penelitian Dan Pengabdian Masyarakat "Implementasi Penelitian Dan Pengabdian Masyarakat Untuk Peningkatan Kekayaan Intelektual,"* (September), 60–63.
- Levine N.D. 1994. Buku Pelajaran Parasitologi Veteriner. Terjemahan G. Ashadi Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Pratiwi, R S.dkk. 2015. Enzim Kitinase dan Aplikasi di Bidang Industri, FTP Universitas Brawijaya Malang.
- Prawiranegara FA. 2015. Mikroteknik Clearing (Penjernihan) preparat. Fakultas Keguruan Ilmu Pendidikan Universitas Islam Sumatra Utara.
- Soedarto. 2003. Zoonosis Kedokteran. Surabaya (ID) : Airlangga University Press.



- Soedarto. 2008. Parasitologi Klinik. Surabaya : Airlangga University Press.
- Soedarto. 2011. Buku Ajar Parasitologi Kedokteran. Sagung Seto. Jakarta.
- Sumanto D. 2014. Belajar Sitohistoteknologi Untuk Pemula. LAKIS. Semarang
- Wolley TA, 1988. Acarology : Mites and Human. Welfare . New York: John Wolley & sons. Inc.