MODIFIKASI LARUTAN FIKSASI MENGGUNAKAN GLISEROL BERTINGKAT PADA PEMBUATAN PREPARAT AWETAN TELUR SOIL TRANSMITTED HELMINTHS

Modification of Fixative Solution Using Gradual Glycerol in the Preparation of Preserved Slides of Soil Transmitted Helminths Egg

Meyda Fianisa Mufti ¹ Dina Afrianti^{2*}

¹Jurusan Analis Kesehatan, Poltekkes Kemenkes Semarang, Semarang, Indonesia

*2Jurusan Analis Kesehatan, Poltekkes Kemenkes Semarang, Semarang, Indonesia

*email: dinafrianti@poltekkessmg.ac.id

Kata Kunci:

Gliserol, Preparat telur STH, Kualitas preparat

Keywords:

Glycerol, STH egg preparation, Preparation quality

Abstrak

Preparat awetan merupakan bentuk media pemeriksaan dan pembelajaran mikroskopis yang dapat digunakan secara berulang dengan waktu pemakaian yang lama. Kesulitan dalam pembuatan preparat awetan telur Soil Transmitted Helminths (STH) menyebabkan terbatasnya pengadaan preparat awetan. Preparat awetan yang dibuat menggunakan metode wet mount tidak bertahan lama karena dapat mengering dalam waktu yang singkat yaitu kurang dari satu bulan. Penelitian dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian larutan fiksasi gliserol terhadap ketahanan preparat awetan telur STH selama 12 minggu. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan 4 perlakuan dan 6 pengulangan, dengan total sampel sebanyak 27. Sampel yang digunakan adalah suspensi sampel feses positif STH. Analisis data yang digunakan adalah Kruskal Wallis dan Man Whitney U. Hasil uji Kruskal Wallis menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara preparat tanpa gliserol dan dengan gliserol 30%, 50%, dan 70% (p = 0.002). Dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang bermakna antara preparat tanpa gliserol dan dengan gliserol 30%, 50%, dan 70% (p = 0.002) dan didapatkan hasil pada konsentrasi gliserol 50% lebih optimal dalam mempertahankan preparat hingga bulan ketiga.

Abstract

Preserved slides serve as a form of microscopic examination and learning media that can be repeatedly utilized over an extended period. The difficulty in preparing preserved slides of Soil Transmitted Helminths (STH) eggs has led to limited availability of these specimens. Preserved slides that use the wet mount preparations do not last long because they can dry out in a short period of time, typically within less than a month. This study aims to determine the effect of administering a glycerol fixation solution on the durability of preserved STH egg specimens over a period of 12 weeks. This research is an experimental study involving 4 treatments and 6 repetitions, with a total of 27 samples. The samples used were suspensions of STHpositive fecal samples. The data analysis methods used were Kruskal-Wallis and Mann-Whitney U tests. The results of the Kruskal-Wallis test showed a significant difference between the preparations without glycerol and those with 30%, 50%, and 70% glycerol (p = 0.002). It can be concluded that there is a significant difference between preparations without glycerol and those with 30%, 50%, and 70% glycerol (p = 0.002). The results indicated that a 50% glycerol concentration was more optimal in preserving the preparations up to the third month.

PENDAHULUAN

Kecacingan merupakan infeksi parasit usus yang paling umum terjadi di dunia dan diperkirakan telah menginfeksi lebih dari I miliar individu. Penyakit ini disebabkan oleh cacing kelompok Soil Transmitted Helminths (STH), yang memerlukan tanah sebagai tempat perkembangan (Clarke et al., 2017). Spesies cacing STH di Indonesia yang sering menginfeksi manusia, yaitu cacing gelang (Ascaris lumbricoides), cacing cambuk (Trichuris trichiura), dan cacing tambang (Necator americanus dan Ancylostoma duodenale) (Setyowatiningsih and Surati, 2017).

Menurut World Health Organization (WHO) pada tahun 2023 sekitar 1,5 miliar orang atau 24% dari populasi dunia terinfeksi STH (WHO, 2023). Prevalensi infeksi kecacingan di Indonesia yang disebabkan oleh STH dilaporkan sebesar 31,8% (Setyowatiningsih, Surati and Wikandari, 2023). Tingkat infeksi kecacingan tertinggi di Indonesia terjadi pada kelompok usia anak dibawah 12 tahun (Cici et al., 2021). Di Kota Semarang, prevalensi kecacingan pada siswa sekolah dasar usia 8-10 tahun mencapai 48,32% pada tahun 2020 (Prabandari et al., 2020). Pemeriksaan kecacingan dapat dilakukan dengan metode kualitatif dan kuantitatif pada sampel feses (Heddy Arifta A et al., 2022). Metode wet mount merupakan gold standard pemeriksaan kualitatif feses karena sensitif pada infeksi berat, murah, mudah, dan pengerjaannya yang cepat, namun metode ini kurang sensitif pada infeksi ringan. Metode wet mount merupakan metode yang dapat digunakan pada pembuatan preparat awetan telur cacing (Regina, Bakri, 2018). Halleyantoro and Metode menggunakan larutan Eosin 2% untuk membedakan jelas telur-telur cacing dengan kotoran disekitarnya. Selain Eosin 2%, Malachite Green 0,5% dapat digunakan sebagai alternatif pewarnaan telur STH (Oktari et al., 2018).

Preparat awetan merupakan bentuk media pemeriksaan dan pembelajaran mikroskopis yang dapat digunakan secara berulang dengan waktu pemakaian yang lama. Namun, kesulitan dalam pembuatan preparat awetan menyebabkan terbatasnya pengadaan preparat awetan karena dapat mengering dalam waktu yang singkat yaitu kurang dari satu bulan (Novita and Yuliana, 2023). Menurut penelitian Asarina & Haeruni 2019, gliserol dapat menyerap molekul air dari lingkungan dan mencegah mengeringnya preparat wet mount (Asarina and Haeruni, 2019).

Gliserol merupakan senyawa yang dapat menyerap molekul air dari lingkungan dan mencegah mengeringnya preparat, gliserol memiliki viskositas relatif rendah yang membuatnya lebih mudah untuk diolah dan dicampur dengan berbagai bahan, serta memiliki tampilan yang jernih dan tidak berwarna yang dapat mengganggu tampilan preparat di bawah mikroskop (Rezeki, 2018). Pada penelitian ini peneliti mencoba untuk mengetahui pengaruh konsentrasi larutan fiksasi gliserol yaitu 30%, 50%, dan 70% pada pembuatan preparat awetan telur STH, karena selain gliserol dapat menyerap molekul air dari lingkungan dan mencegah mengeringnya preparat, gliserol memiliki viskositas relatif rendah yang membuatnya lebih mudah untuk diolah dan dicampur dengan berbagai bahan, serta memiliki tampilan yang jernih dan tidak berwarna yang dapat mengganggu tampilan preparat di bawah mikroskop (Rezeki, 2018). Berdasarkan pernyataan diatas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul "Modifikasi Larutan Fiksasi Menggunakan Gliserol Bertingkat Pada Pembuatan Preparat Awetan Telur Soil Transmtted Helminths".

METODE PENELITIAN

Jenis peelitian ini adalah penelitian eksperimental berupa penambahan larutan fiksasi gliserol 30%, 50%, dan 70% pada pembuatan preparat awetan telur *Soil Transmitted Helminths* (STH) dan dibandingkan dengan preparat tanpa gliserol dalam hal ketahanan preparat dan kualitas telurnya. Desain penelitian yang dirancang pada penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Pada penelitian ini jumlah sampel yang digunakan

diambil dari rumus pengulangan Federer dan didapatkan 6 pengulangan untuk setiap kelompok perlakuan (4 kelompok), sehingga total sampel sebanyak 24. Analisis data yang digunakan adalah *Kruskal Wallis* dan *Man Whitney U*.

PEMBUATAN MALACHITE GREEN 0,5%

Pembuatan Malachite Green 0,5% dilakukan dengan menimbang Malachite Green 1% sebanyak 50 gram dan

dilarutkan dengan menggunakan aquadest pada gelas kimia hingga 100 ml (Oktari, Negara and Mahmud, 2018).

HASIL DAN PEMBAHASAN HASIL

Tabel I Hasil Penilaian Preparat

		Total Skor			
Konsentrasi	Pengulangan	Awal Pembuatan	Bulan I	Bulan 2	Bulan 3
Tanpa Gliserol	NI	13	12	13	12
	N2	13	0	0	0
	N3	13	0	0	0
	N4	13	0	0	0
	N5	13	10	10	10
30%	TI	9	8	9	8
	T2	13	9	10	10
	Т3	13	13	13	П
	T4	13	13	14	13
	Т5	13	13	14	14
50%	LI	13	13	13	13
	L2	13	13	14	14
	L3	13	13	14	15
	L4	13	13	14	15
	L5	13	13	14	14
70%	TI	13	12	13	13
	T2	13	13	13	12
	Т3	13	12	12	13
	T4	13	12	13	13
	T5	13	13	14	15

Berdasarkan tabel I dapat diketahui bahwa hasil akhir penilaian preparat awetan telur STH pada penyimpanan bulan ketiga kelompok preparat tanpa gliserol menunjukkan bahwa terdapat 4 preparat yang mengering secara keseluruhan dan tidak dapat dinilai, dan 2 preparat dengan kualitas kurang baik. Preparat awetan telur STH dengan larutan fiksasi gliserol 30% menunjukkan bahwa terdapat I preparat dengan kualitas tidak baik, 3 preparat dengan kualitas kurang baik, dan 2 preparat dengan kualitas baik. Preparat awetan telur STH dengan larutan fiksasi gliserol 50% menunjukkan bahwa terdapat I preparat dengan kualitas kurang baik dan 5 preparat dengan kualitas baik. Preparat awetan telur STH dengan larutan fiksasi gliserol 70% menunjukkan bahwa terdapat 5 preparat dengan kualitas kurang baik dan I preparat dengan kualitas baik.

Data hasil penilaian total preparat awetan telur STH pada bulan ketiga diuji dengan menggunakan uji *Kruskal Wallis* untuk menentukan adakah perbedaan secara statistik anatara kelompok variabel.

Tabel 2 Uji Kruskal Wallis

Asymp.Sig
0.002

Berdasarkan tabel 2 didapatkan nilai signifikansi (Asymp. Sig.) sebesar p=0,002 dimana p-value < 0,05 yang artinya H1 diterima dan H0 ditolak. Untuk membandingkan secara spesifik dan menemukan perbedaan yang signifikan antar kelompok dilakukan uji lanjut (post hoc test) menggunakan uji Man Whitney U.

Tabel 3 Uji Mann Whitney U

Perbandingan	Gliserol	Gliserol	Gliserol
	30%	50%	70%
Tanpa gliserol	0.027	0.003	0.004
Gliserol 30%		0.026	0.406
Gliserol 50%			0.051

Berdasarkan tabel 3 hasil uji *Mann Whitney U* dapat dilakukan pengambilan keputusan diterima atau ditolaknya hipotesis dengan cara membandingkan nilai signifikansi (*Asymp.Sig.*) dengan probabilitas 0,05.

Dengan ketentuan, apabila *p-value* > 0,05 maka maka artinya H0 diterima dan H1 ditolak atau tidak ada perbedaan ketahanan dan kualitas preparat awetan telur STH antar variabel perlakuan, tetapi jika *p-value* < 0,05 maka artinya H0 ditolak dan H1 diterima atau ada perbedaan ketahanan dan kualitas preparat awetan telur STH antar variabel perlakuan.

PEMBAHASAN

Ketahaan Preparat Awetan Telur STH

Hasil penilaian ketahanan preparat awetan telur STH penambahan gliserol 30%, 50%, dan 70% pada menunjukkan tingkat ketahanan yang berbeda dari kelompok kontrol atau tanpa penambahan gliserol. Pada kelompok kontrol atau tanpa pemberian gliserol hanya terdapat I preparat yang tidak mengering hingga I bulan, I preparat yang tidak mengering hingga 2 bulan, dan 4 preparat lainnya mengering secara keseluruhan pada bulan pertama. Pengeringan yang terjadi ini disebabkan tidak adanya bahan pengawet tertentu dalam preparat awetan telur cacing STH yang dapat mempengaruhi kemampuan telur untuk mempertahankan kelembaban dengan menghambat sedangkan tidak selarasnya waktu penguapan, pengeringan pada preparat dapat disebabkan oleh waktu mounting yang tidak bersamaan.

Pada kelompok pemberian gliserol 30% hanya mampu bertahan hingga 2 bulan, kelompok pemberian gliserol 50% dan 70% mampu bertahan hingga 3 bulan. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian Asarina & Haeruni (2019) yang mengatakan bahwa preparat wet mount dengan penambahan gliserol di berbagai konsentrasi terbukti lebih tahan lama dan tidak kering dibandingkan preparat wet mount tanpa penambahan gliserol. Penelitian lain juga menunjukkan kemampuan gliserol dalam membuat preparat wet mount bertahan lama dalam waktu tertentu tanpa mengering. Penelitian Khanna dkk (2014) menyatakan bahwa penambahan gliserol berfungsi sebagai pengawet karena mempunyai

sifat higroskopis sehingga dapat menyerap air dari lingkungan sekitar dan mencegah pengeringan sediaan basah untuk pemeriksaan telur cacing (Khanna et al., 2014).

Dilihat dari hasil penelitian preparat dengan penambahan gliserol tidak sepenuhnya mampu menjaga kelembaban dalam jangka waktu yang lama tanpa mengalami pengeringan. Faktor yang mempengaruhi pengeringan pada preparat yang sudah diberi gliserol dapat berupa kaca penutup (cover glass) yang digunakan, menurut penelitian Novita dan Yuliana (2023) cover glass bulat dengan ukuran 18x18mm lebih baik dibandingkan dengan menggunakan cover glass 20x20mm karena luas permukaan yang lebih besar memberikan lebih banyak area untuk molekul zat menguap, sehingga meningkatkan laju penguapan (Novita and Yuliana, 2023). Penggunaan larutan pewarna dan besar konsentrasi juga dapat mempengaruhi ketahanan suatu preparat awetan karena sifat molekul suatu larutan dapat mempengaruhi penguapan jika terkena elemen tertentu (Novita and Yuliana, 2022).

Kualitas Preparat Awetan Telur STH

Pada hasil penilaian kualitas telur pada preparat awetan telur STH tanpa gliserol mengalami penurunan kualitas pada bulan pertama seperti tampilan telur cacing menjadi terlihat kurang jelas, warna dinding menjadi sedikit transparan, dan bagian isi telurnya menjadi terlihat kurang jelas, dan bahkan terdapat 4 preparat yang tidak dapat dinilai telurnyaa karena mengalami pengeringan secara keseluruhan. Penurunan kualitas yang terjadi dapat disebabkan karena hilangnya kelembaban yang diperlukan untuk menjaga kondisi optimal telur dalam preparat, akibatnya terjadi penurunan hingga kerusakan morfologi pada telur.

Pada kelompok pemberian gliserol 30% mengalami penurunan kualitas pada bulan pertama seperti tampilan telur cacing menjadi terlihat kurang jelas, warna dinding menjadi sedikit transparan, dan bagian isi

telurnya menjadi terlihat kurang jelas. Penurunan kualitas terjadi kembali pada bulan ketiga, tetapi terdapat juga preparat yang masih bertahan dengan kondisi seperti awal pembuatan.

Preparat awetan telur STH dengan penambahan gliserol 50% tidak mengalami penurunan kualitas dari awal pembuatan hingga bulan ketiga dan memberikan kualitas yang lebih optimal secara keseluruhan. Hasil tersebut serupa dengan penelitian Khanna dkk (2014) yang mengatakan bahwa gliserol 50% merupakan pengenceran yang optimal karena dapat mencegah perubahan morfologi sel telur dan menjaga struktur internalnya agar tetap utuh. Penggunaan gliserol murni justru dianggap tidak optimal dalam mengawetkan preparat karena jika digunakan tanpa pengenceran gliserol untuk menarik air kemampuan menyebabkan struktur internal sel telur menjadi terdistorsi atau rusak karena kehilangan air yang signifikan dari sel-sel tersebut (Khanna et al., 2014).

Preparat awetan telur STH dengan penambahan gliserol 70% mengalami penurunan kualitas pada bulan pertama dan kedua, dan hanya terdapat I preparat yang masih bertahan dengan kondisi seperti awal pembuatan hingga bulan ketiga. Penurunan yang terjadi seperti tampilan telur cacing menjadi terlihat kurang jelas, warna dinding menjadi sedikit transparan, dan bagian isi telurnya menjadi terlihat kurang jelas. Penurunan kualitas yang terjadi pada preparat dengan gliserol dapat disebabkan oleh proses mounting yang dilakukan karena penutup yang tidak rapat atau tidak kedap udara dapat memungkinkan udara masuk dan menyebabkan penguapan lebih cepat dan mengakibatkan penurunan kualitas karena hilangnya kelembaban yang diperlukan untuk menjaga kondisi optimal telur dalam preparat. Terjadinya perbedaan waktu pengeringan antar preparat seperti pada hasil dapat disebabkan oleh waktu mounting yang tidak bersamaan.

Hasil yang didapat pada bulan ketiga kemudian dihitung secara statistik menggunakan uji *Kruskal Wallis* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pada ketahanan dan

kualitas preparat awetan telur STH tanpa pemberian gliserol dengan pemberian gliserol bertingkat secara statistik. Didapatkan nilai signifikansi (Asymp.Sig.) sebesar p=0,002 dimana p-value < 0,05 yang artinya HI diterima dan H0 ditolak atau terdapat pengaruh konsentrasi larutan fiksasi gliserol 30%, 50%, dan 70% pada pembuatan preparat awetan telur STH. Untuk membandingkan secara spesifik dan menemukan perbedaan yang signifikan antar kelompok dilakukan uji lanjut (post hoc test) menggunakan uji Man Whitney U, dan didapatkan hasil berupa gliserol 50% lebih optimal dalam menjaga kelembapan preparat hingga 12 minggu.

KESIMPULAN

Ada pengaruh pemberian larutan fiksasi gliserol terhadap ketahanan preparat awetan telur STH (p = 0,002). Gliserol 50% lebih optimal dalam menjaga kelembapan preparat hingga 12 minggu, dan kualitas telur yang dihasilkan seluruhnya baik. Bagi peneliti selanjutnya disarankan memperhatikan teknik *mounting* dalam pembuatan preparat dan mengganti *cover glass* persegi menjadi *cover glass* bulat, membandingkan larutan fiksasi alternatif yang memiliki karakteristik yang mirip dengan gliserol untuk menentukan larutan fiksasi yang optimal, dan melakukan flotasi sebelum pembuatan preparat.

DAFTAR PUSTAKA

Asarina, S. and Haeruni, N. (2019) 'Evaluasi Penggunaan Gliserol dalam Pembuatan Preparat Telur Cacing Semipermanen', *Jurnal Pengelolaan Laboratorium Pendidikan*, I(2), pp. 37–40. Available at: https://doi.org/10.14710/jplp.1.2.37-40.

Cici, A. et al. (2021) 'Analisis Sikap dan Pengetahuan Remaja Rentang Umur 15-22 Tahun Tentang Penyakit Kecacingan', *Prosiding SEMNAS BIO*, I, pp. 818–829. Available at: https://semnas.biologi.fmipa.unp.ac.id/index.php/prosiding/article/view/106%0Ahttps://semnas.biologi.fmipa.unp

.ac.id/index.php/prosiding/article/download/106/89.

Heddy Arifta A, R. et al. (2022) 'Studi Deskriptif Pemeriksaan Efektivitas Sampel Feses Metode Langsung Dan Sedimentasi Telur STH (Soil Transmitted Helminth)', Borneo Journal of Science and Mathematics Education BJSME: Borneo Journal of Science and Mathematics Education, 2(3), p. 2022. Available at: https://doi.org/https://doi.org/10.21093/bjsme.v2i3.591 6.

Khanna, V. et al. (2014) 'Identification and Preservation of Intestinal Parasites Using Methylene Blue-Glycerol Mount: A new Approach To Stool Microscopy', *Journal of Parasitology Research*, 2014. Available at: https://doi.org/10.1155/2014/672018.

Novita, I. and Yuliana, L. (2022) 'Utilization of Natural Dyes Solutions and Glycerol for the Quality and Durability of Direct Wet Mount Preparations Storage in Educational Laboratories', *Tropical Health and Medical Research*, 4(2), pp. 50–57. Available at: https://doi.org/10.35916/thmr.v4i1.65.

Novita, I. and Yuliana, L. (2023) 'Perbedaan Teknik dan Larutan Mounting Preparat Basah Dalam Pembuatan Preparat Awetan di Laboratorium Pendidikan', I, pp. 1–5. Available at: https://doi.org/https://doi.org/10.26714/jlabmed.7.1.2023.1-5.

Oktari, A., Negara, I. and Mahmud, D. (2018) 'Malachite Green Sebagai Alternatif Pewarnaan Awetan Telur Cacing Nematoda Usus', 02(233), pp. 13–18. Available at: https://jurnal.yayasanbaktiasihbdg.co.id/index.php/jab/article/download/23/8.

Prabandari, A.S. et al. (2020) 'Prevalensi Soil Transmitted Helminthiasis pada Siswa Sekolah Dasar di Kota Semarang', Avicenna: Journal of Health Research,

3(1), pp. I–10. Available at: https://doi.org/10.36419/avicenna.v3i1.337.

Regina, M.P., Halleyantoro, R. and Bakri, S. (2018) 'Perbandingan Pemeriksaan Tinja Antara Metode Sedimentasi Biasa dan Metode Sedimentasi Formol-Ether Dalam Mendeteksi Soil-Transmitted Helminth', Diponegoro Medical Journal (Jurnal Kedokteran Diponegoro), 7(2), pp. 527–537. Available at: https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/medico/article/view/20696.

Rezeki (2018) Sintesis Triasetin Dari Gliserol Menggunakan Reaksi Esterifikasi Berkatals Amberlist 36. Available at: http://repositori.uin-alauddin.ac.id/id/eprint/16981.

Setyowatiningsih, L. and Surati, S. (2017) 'Hubungan Higiene Sanitasi Dengan Kejadian Infeksi Soil Transmitted Helminths pada Pemulung di TPS Jatibarang', *Jurnal Riset Kesehatan*, 6(1), p. 40. Available at: https://doi.org/10.31983/jrk.v6i1.2325.

Setyowatiningsih, L., Surati and Wikandari, R.J. (2023) 'Faktor Risiko Kontaminasi Telur Cacing Soil Transmitted Helminths pada Sayur Lalapan', *Jurnal Kedokteran Universitas Palangka Raya*, 11(1), pp. 36–40. Available at: https://doi.org/10.37304/jkupr.v11i1.8745.

WHO (2023) Infeksi Cacing Yang Ditularkan Melalui Tanah, WHO. Available at: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/soil-transmitted-helminth-infections.