

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian analitik eksperimental dimana pada penelitian ini membandingkan hasil kualitas sediaan permanen *Pediculus humanus capitis* yang pada proses clearingnya menggunakan xylol dan minyak kelapa murni (*Virgin coconut oil*) dengan desain penelitian *cross sectional*. Dalam penelitian ini mengamati kejernihan, kualitas warna, dan keutuhan bentuk tubuh *Pediculus humanus capitis* pada sediaan permanen yang pada proses clearingnya menggunakan xylol dan minyak kelapa murni dengan pemanasan 50°C dan tanpa pemanasan.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dan pemeriksaan dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang pada bulan Juni 2025.

C. Subjek Penelitian dan Sampel

1. Subjek Penelitian

Subjek pada penelitian ini adalah Minyak Kelapa Murni (*Virgin coconut oil*) yang dibuat tanpa proses pemanasan diperoleh dari aplikasi belanja online diproduksi oleh Nutrifarm dengan kriteria:

- a. Konsentrasi 100% minyak kelapa murni (*Virgin coconut oil*)
- b. Bening atau berwarna kuning pucat
- c. Aroma tidak berbau tengik
- d. Tidak menggunakan campuran bahan kimia
- e. Dibuat tanpa pemanasan (Ayu et al., 2023)

2. Sampel

Sampel dalam penelitian ini yaitu menggunakan *Pediculus humanus capitis* diperoleh dari 6 orang anak yang menderita *Pediculosis capitis* di RT 001 Desa Trimulyo, Pesawaran dengan beberapa kriteria sampel diantaranya:

- a. Fase dewasa Jantan dan betina dalam kondisi hidup
- b. Memiliki susunan tubuh yang lengkap
- c. Memiliki ukuran tubuh yang relative sama untuk memperoleh ketebalan kitin

yang seragam (Septiani, 2018).

1) Penentuan jumlah sampel

Penentuan jumlah sampel ditentukan berdasarkan rumus Federer (1963).

Total sampel yang akan digunakan sebagai berikut :

Rumus : $(t-1)(n-1) \geq 15$

Keterangan :

n = Banyaknya pengulangan

t = Jumlah kelompok perlakuan

Perhitungan:

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

$$(3-1)(n-1) \geq 15$$

$$2(n-1) \geq 15$$

$$(n-1) \geq 15 / 2$$

$$n \geq 7,5 + 1$$

$$n \geq 8,5$$

$$n \geq 9$$

Minimal sampel yang digunakan yaitu 9 sampel. Pada penelitian ini menggunakan 9 sampel dengan tiga perlakuan sehingga jumlah sampel yang dibutuhkan adalah 27 ekor *Pediculus humanus capitis*.

D. Variabel Dan Definisi Operasional

Tabel 3. 1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Variabel bebas					
Minyak Kelapa Murni (VCO)	Cairan bening hingga kekuningan yang diperoleh dari daging kelapa segar tanpa proses pemanasan berlebih.	Observasi	Timer	- Tanpa pemanasan - 50°C	Interval
Variabel Terikat					
Sensitivitas Minyak kelapa murni terhadap kualitas sediaan permanen <i>Pediculus humanus capitis</i>	Sensitivitas: persentase hasil kriteria baik yang terdeteksi oleh minyak kelapa murni terhadap hasil keiteria baik yang terdeteksi oleh xylol.	Observasi	Mikroskop	Sensitivitas dalam persen (%)	Rasio
Spesifisitas Minyak kelapa murni terhadap kualitas sediaan permanen <i>Pediculus humanus capitis</i>	Spesifisitas: Persentase hasil kriteria tidak baik yang terdeteksi oleh minyak kelapa murni terhadap hasil kriteria tidak baik yang terdeteksi oleh xylol	Observasi	Mikroskop	Spesifisitas dalam persen (%)	Rasio
Kualitas sediaan permanen <i>Pediculus humanus capitis</i> berdasarkan kejerniham, kualitas warna, dan keutuhan morfologi	Sediaan dilihat dari kejerniham, kualitas warna, dan keutuhan morfologi dari <i>Pediculus humanus capitis</i> setelah dilakukan clearing.	Observasi	Mikroskop	1. Buruk 2. Baik	Ordinal

E. Pengumpulan Data

1. Prosedur Penelitian

- a. Pembuatan surat izin penelitian
- b. Pengumpulan alat dan bahan pemeriksaan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi Mikroskop dengan perbesaran 4x10, 9 buah beaker glass berukuran 100 ml, *cotton bud*, sisir serit, objek glass, deck glass, inkubator dengan suhu 50°C, timer, 4 buah pipet volume ukuran 10 ml, 2 buah gelas ukur 100 ml, wadah spesimen, dan cawan petri sebanyak 2 buah.

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini meliputi sampel kutu kepala (*Pediculus humanus capitis*), KOH 10%, Alkohol bertingkat (30%, 50%, 96%, absolut), aquadest, xylol, minyak kelapa murni (VCO), dan Entelan.

- c. Pembuatan sediaan

2. Pengambilan sampel

- a. Sampel penelitian diperoleh dengan cara menyisir rambut 6 anak yang terinfeksi kutu kepala menggunakan sisir serit.
- b. Hasil seritan kutu yang didapat dimasukkan ke dalam wadah spesimen, beri sedikit rambut supaya kutu tetap dapat bergerak dan tidak menumpuk satu sama lain, kemudian wadah ditutup dan beri lubang udara. Selanjutnya sampel dibawa ke Laboratorium Parasitologi Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang
- c. Di laboratorium, kutu diperiksa secara makroskopis ditempat terang untuk memastikan kelengkapan tubuhnya kemudian kutu dipilah sesuai kriteria sampel yang akan digunakan yaitu fase dewasa jantan dan betina dalam keadaan hidup, memiliki susunan tubuh yang lengkap, dan ukuran tubuh yang relatif sama. Kutu yang tidak memenuhi kriteria diletakkan di wadah terpisah.
- d. Sampel kutu yang telah dipilah kemudian direndam dalam larutan KOH 10% selama 24 jam kemudian dilanjutkan dengan prosedur pembuatan sediaan permanen.

3. Metode Pemeriksaan

Membuat sediaan *Pediculus humanus capitis* dan melakukan pengamatan secara mikroskopis.

4. Prinsip Pemeriksaan

Pemeriksaan sediaan permanen *Pediculus humanus capitis* pada penelitian ini mengikuti prinsip dasar preparasi mikroskopis, yang bertujuan untuk menghasilkan sediaan yang jernih, utuh, dan mudah diamati. Prinsip tersebut diterapkan melalui langkah-langkah pemeriksaan yaitu kutu dilakukan fiksasi menggunakan larutan KOH 10% agar larutan ekskeleton pada kutu menipis, kemudian direndam kedalam larutan alkohol bertingkat supaya molekul air dalam jaringan kutu hilang lalu direndam kedalam minyak kelapa murni dan xylol kemudian letakkan sampel diatas objek glass yang diberi entellan dan ditutup menggunakan deck glass, selanjutnya diperiksa menggunakan mikroskop perbesaran 4x10.

5. Pembuatan Sediaan Permanen *Pediculus humanus capitis*

- a. *Pediculus humanus capitis* direndam dalam larutan KOH 10% dengan waktu perendaman 24 jam, kemudian dibilas dengan aquadest.
- b. Rendam kutu kedalam larutan alkohol 30% selama 15 menit diulang sebanyak 3 kali.
- c. kemudian setiap kutu dipress menggunakan 2 objek glass secara horizontal hingga kedua kaca menempel ringan. Tahapan ini dilakukan tanpa tekanan agar cairan yang ada di dalam perut kutu keluar tanpa merusak struktur tubuh kutu.
- d. Selanjutnya masukan ke dalam larutan alkohol 50% dan 96% masing – masing selama 15 menit dan diulang sebanyak 3 kali.
- e. *Pediculus humanus capitis* dimasukan ke dalam larutan alkohol absolut selama 5 menit.
- f. Kemudian dilanjutkan proses clearing sesuai dengan kelompok perlakuan. Clearing dengan xylol dilakukan selama 10 menit diulang sebanyak 3 kali. Proses clearing menggunakan minyak kelapa murni dengan pemanasan 50°C dilakukan didalam inkubator selama 30 menit, dan proses clearing tanpa pemanasan dilakukan selama 30 menit.
- g. Setelah melalui proses clearing spesimen *Pediculus humanus capitis* kemudian diletakkan diatas objek glass yang telah diberi entellan, lalu ditutup dengan cover glass dan diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 4x10 (Septiani, 2018).

6. Indikator Penilaian Kualitas Sediaan

Data diperoleh dengan melakukan pengamatan morfologi sediaan permanen *Pediculus humanus capitis* dewasa secara mikroskopis menggunakan perbesaran 4x10. Penilaian kualitas sediaan dilakukan dengan mengamati tiga aspek utama, yaitu meliputi kejernihan, kualitas warna, dan keutuhan sediaan permanen. Kualitas sediaan yang baik dinilai jika kejernihan semakin jernih maka semakin mudah untuk diamati struktur dari morfologinya, kualitas warna juga harus sesuai dengan warna aslinya, selain itu keutuhan struktur sediaan permanen tidak hancur atau struktur tubuhnya masih lengkap. Kualitas sediaan yang buruk dinilai apabila sediaan terlihat kotor, tidak transparan, buram dan berwarna hitam atau gelap, serta morfologi tidak utuh atau rusak (Hidayani et al., 2018).

Masing-masing kriteria tersebut diberikan skor 1 apabila kejernihan, kualitas warna, dan keutuhan sediaan permanen buruk atau cukup baik. Sediaan diberi skor 2 apabila masing-masing sediaan kejernihan, kualitas warna, dan keutuhan sediaan baik, sehingga rentang skor antara 1-3 akan diartikan sebagai kualitas sediaan buruk, dan rentang skor 4-6 dinyatakan sebagai sediaan baik (Septiani, 2018).

Tabel 3. 2 Kriteria Penilaian Kualitas Sediaan Permanen

No.	Deskripsi	Skala Rasio	Skor
1.	Kejernihan Sediaan	Tidak jernih	1
		Jernih	2
2.	Kualitas Warna	Tidak Baik	1
		Baik	2
3.	Keutuhan Bentuk Tubuh	Tidak utuh	1
		Utuh	2

Sumber: (Lael, 2018)

Tabel 3. 3 Skoring Hasil Kualitas Sediaan

No.	Deskripsi	Skor
1.	Buruk	1-3
2.	Baik	4-6

Sumber: (Lael, 2018)

F. Pengolahan dan Analisis Data

Data hasil penilaian berdasarkan indikator penilaian kemudian dianalisis menggunakan uji sensitivitas dan spesifisitas menggunakan rumus :

Sensitivitas $[a/(a+c)] \times 100$ dan Spesifisitas $[d/(b+d)] \times 100$

Keterangan :

- a : Jumlah sediaan yang dinilai baik oleh VCO dan xylol (*true positive*)
- b : Jumlah sediaan yang dinilai baik oleh VCO tetapi buruk menurut xylol (*false positive*)
- c : Jumlah sediaan yang dinilai baik oleh xylol tetapi tidak oleh VCO (*false negative*)
- d : Jumlah sediaan yang dinilai tidak baik oleh VCO dan juga oleh xylol (*true negative*) (Akrom, 2020).

G. Ethical Clearance (Persetujuan Etik)

Penelitian ini menggunakan manusia sebagai sumber spesimen (kutu kepala) sehingga perlu dilakukan proses yang sesuai dengan prinsip etika penelitian. Oleh karena itu, Naskah skripsi diserahkan kepada Komite Etik Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang untuk dinilai kelayakannya secara etik. Nomor layak etik Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang ini adalah No.397/KEPK-TJK/VI/2025 tanggal 05 juni 2025. Seluruh subjek (anak-anak yang diambil spesimen kutunya) diberikan penjelasan kepada orang tua atau wali mengenai tujuan dan prosedur penelitian. Pengambilan spesimen dilakukan dengan menyisir rambut anak menggunakan sisir serit, yang tidak menimbulkan rasa sakit atau ketidaknyamanan, dan dilakukan dengan cara yang aman. Persetujuan diminta secara tertulis melalui lembar informed consent yang ditandatangani oleh orang tua atau wali. Orang tua/wali berhak menolak partisipasi anak dalam penelitian ini tanpa konsekuensi apa pun. Identitas anak dan data yang berkaitan dengan penelitian dijaga kerahasiaannya.

Penelitian ini tidak melibatkan penggunaan bahan kimia langsung pada manusia dan tidak menimbulkan risiko bahaya bagi subjek maupun lingkungan. Limbah yang dihasilkan dari proses laboratorium (terutama sisa xylol dan VCO) dikumpulkan dan dimusnahkan sesuai prosedur penanganan limbah bahan kimia laboratorium. Seluruh biaya yang dibutuhkan dalam pelaksanaan penelitian ini ditanggung sepenuhnya oleh peneliti.