

BAB III

MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian tentang "Studi biometri terhadap telur, larva infektif dan cacing dewasa Haemonchus contortus yang diisolasi dari domba" dilaksanakan di Laboratorium Helminthologi Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Surabaya. Penelitian berlangsung selama 15 hari, mulai tanggal 15 sampai dengan 30 Desember tahun 1986.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Cacing

Sebagai bahan penelitian adalah cacing lambung H. contortus dewasa yang diisolasi dari bagian abomasum domba lapangan yang menderita haemonchosis. Untuk pemupukan telur, digunakan tinja segar domba yang bebas dari infestasi nematoda.

3.2.2. Alat-alat dan reagensia

Alat-alat yang diperlukan terdiri dari mikroskop, cawan petri, labu Erlenmeyer, alat penyaring, termometer ruangan, micrometer plate, hygrometer, gelas obyek, kaca penutup, ember plastik, pipet Pasteur dan lilin. Dalam penelitian ini digunakan pula larutan NaCl fisiologis dan larutan alkohol 70%.

3.3. Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan dalam beberapa tahap sebagai

berikut :

3.3.1. Isolasi cacing

Cacing dewasa diisolasi dari bagian abomasum domba lapangan yang dipotong di Rumah Pemotongan Hewan (RPH) Kotamadya Surabaya dan diduga menderita haemonchosis. Kedua ujung abomasum diikat dengan seutas tali dan selanjutnya dibuka (diseksi) di sepanjang bagian curvatura mayornya. Isi abomasum ditampung, sedangkan dinding abomasum dicuci bersih dengan aliran air kran dan secara hati-hati dinding abomasum dikerok dengan jari tangan. Isi abomasum, air cucian dan hasil kerokan ditampung dalam sebuah ember yang sama. Isi lambung diencerkan dengan air dan diaduk sampai homogen, kemudian dibiarkan sejenak dan supernatan dibuang. Hal yang sama dikerjakan dua kali lagi sehingga yang tertinggal hanya sedimen yang bebas dari reruntuhan sel. Selanjutnya cacing yang terdapat di dalam sedimen diambil satu persatu dengan menggunakan lidi yang ujungnya dilancipkan. Cacing yang diperoleh ditampung dalam cawan petri yang berisi larutan NaCl fisiologis.

3.3.2. Identifikasi cacing

Identifikasi cacing dilakukan di bawah mikroskop. Cacing H. contortus betina dewasa mudah dikenal karena warnanya yang kemerahan dengan garis-garis putih menyerupai spiral, ini adalah bagian ovarium yang berwarna putih mengelilingi intestin yang berwarna kemerahan. Pada bagian

dorsal rongga mulutnya terdapat sebuah lanset, sedangkan "papillae cervicalis" berbentuk duri, terletak pada ujung posterior dari bagian oesofagusnya. Bursa cacing jantan mempunyai "lobus lateral" yang ditopang dengan jari-jari (ray) ramping panjang, sedangkan "lobus dorsal" asimetris terletak lebih dekat dengan "lobus lateral" kiri dan ditopang dengan jari-jari yang berbentuk huruf Y. Cacing betina tampak jelas mempunyai "vulval flap" yang menutupi bagian vulvanya. (Soulsby, 1982).

3.3.3. Pengukuran cacing dewasa

Koleksi cacing yang akan diukur, dicuci di dalam labu Erlenmeyer yang berisi larutan NaCl fisiologis dan dikocok. Pencucian dengan cara yang sama diulangi dua kali lagi. Cacing kemudian difiksasi di dalam larutan alkohol 70% panas sekitar 80°C, dan kemudian diukur satu persatu (Sasmita, 1984). Panjang cacing ditentukan dengan memindahkan ke atas gelas obyek yang dibagian bawahnya ditempel dengan kertas skala milimeter*.

3.3.4. Pembebasan telur

Setelah diperoleh H. contortus betina dewasa secukupnya, kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi larutan NaCl fisiologis dan dari masing-masing cacing dipisahkan bagian uterusnya. Pemisahan bagian uterus dikerjakan dengan bantuan Stereomikroskop dan dua potong lidi yang ujungnya dilancipkan. Bagian uterus selanjutnya

* Komunikasi pribadi dengan M. Zainal Arifin

dihancurkan dengan lidi untuk membebaskan telurnya. Koleksi telur sebagian disiapkan untuk diukur, sebagian untuk pemupukan menjadi larva stadium pertama, dan sebagian lagi dipupuk menjadi larva stadium ketiga (larva infeksi).

3.3.5. Pengukuran telur

Untuk keperluan pengukuran, telur-telur dipindahkan dengan pipet Pasteur dari cawan petri ke atas gelas obyek dan ditutup dengan kaca penutup, kemudian ditempatkan di bawah mikroskop. Dengan menggunakan mikrometer okuler, maka dilakukan pengukuran terhadap panjang dan lebar telur. Dari tiap bagian uterus diambil 10 buah sampel telur, sehingga dibutuhkan 10 buah uterus untuk mendapatkan 100 sampel telur. Telur yang dipilih sebagai sampel adalah yang telah mengalami segmentasi.

3.3.6. Pengamatan terhadap pembentukan larva pertama

Untuk tujuan ini digunakan sebuah micrometer plate. Tiga puluh buah lubang micrometer plate diisi dengan larutan NaCl fisiologis dan pada tiap lubang diletakkan telur cacing. Pemeriksaan terhadap penetasan telur menjadi larva stadium pertama dilakukan setiap jam, dengan mengamati di bawah mikroskop.

3.3.7. Pengamatan terhadap pembentukan larva ketiga

Pemupukan telur menjadi larva stadium ketiga (larva infeksi) dikerjakan menurut Sasmita (1984). Telur-telur ditaburkan ke dalam cawan petri yang telah diisi dengan pupuk tinja domba yang masih segar dan bebas infestasi

cacing. Pupukan diaduk hingga merata dan kemudian ditutup dengan penutup cawan petri, dan diusahakan sebagian dindingnya menyentuh pupukan. Selanjutnya pupukan diinkubasikan pada suhu kamar dan setiap hari diaduk serta dijaga kelembabannya. Pemeriksaan terhadap larva infeksi dilakukan setiap hari pada kondensasi air yang terdapat pada dinding penutup cawan petri, kemudian diamati dengan mikroskop. Untuk keperluan ini dibuat enam buah pupukan dalam enam buah cawan petri.

3.3.8. Pengukuran larva infeksi (L3)

Setelah semua pupukan menunjukkan hasil positif terhadap larva infeksi, maka dilanjutkan dengan pengumpulan larva yang dikerjakan menurut metode Baermann (Garcia dan Ash, 1979). Larva yang didapat, dipindahkan ke atas gelas obyek dengan pipet Pasteur. Selanjutnya ditambah dengan sedikit air dan dipanasi sesaat di atas nyala api lilin. Pengukuran larva dilakukan di bawah mikroskop, menggunakan mikrometer okuler.

3.3.9. Parameter-parameter yang akan dicatat

Dalam penelitian ini data pengamatan yang dicatat meliputi :

- a. Rata-rata panjang dan lebar telur cacing
- b. Waktu yang diperlukan telur untuk menetas menjadi larva stadium pertama
- c. Waktu yang diperlukan untuk membentuk larva stadium ketiga

- d. Rata-rata panjang, lebar dan panjang oesofagus larva stadium ketiga
- e. Rata-rata panjang cacing jantan dan betina dewasa

3.3.10. Pengolahan statistik

Data yang diperoleh dari penelitian ini ditampilkan dalam bentuk nilai rata-rata, simpangan baku dan kisaran. Untuk mengetahui frekwensi yang terbanyak dari suatu ukuran, maka ditentukan pula modusnya. Perhitungan semua statistik tersebut di atas diselesaikan menurut Sudjana (1975).