

BAB III
MATERI DAN METODE

BAB III

MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Helmintologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya mulai tanggal 25 Maret sampai dengan tanggal 27 April 2002.

3.2 Bahan dan Materi Penelitian

3.2.1 Bahan Sampel yang Dipergunakan

Bahan sampel untuk penelitian ini adalah feses dari domba yang dipotong di Rumah Potong Hewan Pegirian Kota Surabaya. Sampel tersebut diambil dengan cara rektal atau mengambil dari kolon setelah domba dipotong. Jumlah sampel yang dibutuhkan untuk metode ini adalah sebanyak 100 buah sampel feses segar yang berasal dari domba jantan sebanyak 36 buah dan domba betina sebanyak 64 buah.

3.2.2 Alat dan Bahan yang Dipergunakan

Alat-alat yang akan dipakai untuk pemeriksaan telur cacing terdiri dari gelas plastik, gelas ukur, kaca obyek, kaca penutup, mikroskop, pipet Pasteur, pot plastik, rak tabung, saringan teh, spatula, alat sentrifugasi, tabung sentrifugasi. Sedangkan bahan-bahan yang dibutuhkan terdiri dari air PDAM, aquades, larutan formalin 10%, spesimen feses domba, larutan ZnSO₄ 33,3 %.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Pengambilan Sampel

Sampel berupa feses segar yang berasal dari domba yang dipotong diambil dengan cara rektal atau mengambil langsung dari kolon setelah domba dipotong. Sampel yang diambil selanjutnya dimasukkan dalam pot plastik yang diberi formalin 10 % untuk mencegah terjadinya perkembangan pada telur cacingnya dan diberi kode yang berbeda antara domba yang satu dengan yang lain. Kemudian sampel tadi dibawa ke laboratorium helminthologi untuk diperiksa keberadaan telur cacing dalam sampel feses tersebut. Pemeriksaan sampel tersebut memakai tiga metode yang biasa dipergunakan yaitu, metode natif, sedimentasi ataupun pengapungan.

3.3.2 Pemeriksaan Sampel

Metode Natif (sederhana)

Feses diambil seujung spatula kemudian dibuat menjadi suspensi dengan menambahkan satu tetes air di atas gelas obyek kemudian ditutup dengan gelas penutup. Pemeriksaan dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x (Subekti dkk, 1999).

Metode Sedimentasi

Satu bagian dari sampel feses dicampur dengan sepuluh bagian air dalam gelas plastik, selanjutnya dibuat suspensi dan disaring dengan saringan teh. Filtrat yang diperoleh dimasukkan dalam tabung sentrifus sampai kurang lebih satu sentimeter dibawah mulut tabung. Filtrat disentrifugasi dengan kecepatan 1500

rpm selama 5 menit. Hasil sentrifugasi akan terpisah menjadi dua bagian yaitu supernatan dan endapan. Bagian supernatan dibuang dan dituangi dengan air lagi kemudian disentrifugasi lagi. Proses ini diulang beberapa kali dengan cara yang sama seperti cara sebelumnya sampai diperoleh supernatan yang jernih. Setelah jernih supernatan dibuang dan disisakan sedikit. Endapan yang diperoleh kemudian diaduk dengan pipet Pasteur dan diambil satu tetes untuk diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x (Subekti dkk, 1999).

Metode Pengapungan

Telur cacing kelas trematoda memiliki berat jenis yang lebih besar daripada telur cacing yang lain. Sehingga untuk mengapungkan telur cacingnya harus memakai pelarut yang berat jenisnya lebih besar dibandingkan berat jenis telur cacing, salah satunya adalah memakai metode Otto-Helwitt dan Strahan yang menggunakan pelarut $ZnSO_4$. Satu bagian dari sampel feses tersebut dicampur dengan sepuluh bagian air dalam gelas plastik, selanjutnya dibuat suspensi dan disaring dengan saringan teh. Filtrat yang diperoleh dimasukkan dalam tabung sentrifus sampai kurang lebih satu sentimeter di bawah mulut tabung. Filtrat disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit. Hasil sentrifugasi akan terpisah menjadi dua bagian yaitu supernatan dan endapan. Bagian supernatan dibuang dan dituangi dengan air lagi kemudian disentrifugasi lagi. Proses ini diulang beberapa kali dengan cara yang sama dengan cara sebelumnya sampai diperoleh supernatan yang jernih. Setelah jernih supernatan dibuang. Selanjutnya sisa endapan hasil sentrifugasi tadi ditambah larutan $ZnSO_4$ sampai satu sentimeter di bawah mulut tabung. Selanjutnya disentrifugasi dengan

kecepatan 1500 rpm selama lima menit. Tabung diletakkan pada rak tabung kemudian dengan memakai pipet Pasteur hasil sentrifugasi tersebut ditambah larutan $ZnSO_4$ sampai permukaan pada mulut tabung menjadi cembung. Kaca penutup diletakkan di atas mulut tabung dan dibiarkan selama dua menit. Setelah itu pelan-pelan kaca penutup diambil dan diletakkan pada kaca obyek yang selanjutnya diperiksa di bawah mikroskop dengan memakai perbesaran 100x (Subekti dkk, 1999).

3.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian non eksperimental yang berjenis survei diskriptif. Domba yang akan dijadikan sebagai sampel bukan merupakan hasil pemilihan dan tentunya tanpa perlakuan sebelumnya. Sampel feses tersebut nantinya akan diperiksa keberadaan telurnya dengan menggunakan metode natif, sedimentasi dan metode apung. Apabila dengan salah satu metode ditemukan adanya telur cacing *Fasciola gigantica*, maka sampel tersebut dinyatakan positif sampai seluruh data dari 100 sampel yang diperiksa terkumpul untuk selanjutnya dihitung prevalensinya.

3.5 Peubah yang Diamati

Dalam menentukan positif terinfeksi atau negatifnya sebuah sampel peubah yang akan diamati adalah ada tidaknya telur cacing *Fasciola gigantica* dalam sampel feses domba yang diperiksa baik menggunakan metode natif (sederhana), sedimentasi ataupun metode pengapungan.

3.6 Analisis Data

Dari data yang diperoleh kemudian dihitung dengan menggunakan rumus prevalensi guna memperoleh angka prevalensi cacing *Fasciola gigantica* pada domba yang dipotong di RPH Pegirian Kota Surabaya. Penghitungan prevalensi dilakukan dengan menggunakan rumus prevalensi sebagai berikut (Murtidjo, 1994) :

$$\text{Prevalensi} = \frac{\text{Jumlah hewan terinfeksi}}{\text{Jumlah populasi beresiko}} \times 100 \%$$

Dari data jumlah masing-masing sampel domba jantan dan betina yang diperiksa, selanjutnya dianalisis menggunakan uji Khi-Kuadrat untuk mengetahui apakah ada perbedaan tingkat kejadian infeksi cacing *Fasciola gigantica* antara domba jantan dan betina (Sudjana, 1992).

Rumus untuk uji Khi-Kuadrat :

	Positif	Negatif	Σ
Jantan	a	b	a + b
Betina	c	d	c + d
Σ	a + c	b + d	n

$$\chi^2 = \frac{n (| ad - bc | - \frac{1}{2} n)^2}{(a + b) (a + c) (b + d) (c + d)}$$