

### **III. METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Tempat dan Waktu**

Penelitian ini sudah dilaksanakan di Pusat Konservasi Gajah (PKG), Taman Nasional Way Kambas (TNWK) untuk pengambilan sampel feses dan di laboratorium Parasitologi Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner, Lampung untuk identifikasi protozoa parasitik. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2015-Februari 2015.

#### **3.2. Alat dan Bahan**

##### **3.2.1. Alat dan Bahan di Lapangan**

###### **3.2.1.1. Alat**

Alat yang digunakan di lapangan adalah toples plastik, sendok plastik, sarung tangan, kertas label, kertas karbon, alat tulis, lembar kerja dan kamera digital canon *powershot* A2300 HD (Bassett dan McCurnin, 2010).

#### 3.2.1.2. Bahan

Bahan penelitian adalah feses gajah sumatera, air, dan kalium dikromat ( $K_2Cr_2O_7$ ) 2% (Kurniawan dkk., 2009).

### 3.2.2. Alat dan Bahan di Laboratorium

#### 3.2.2.1. Alat

Alat yang digunakan di laboratorium adalah gelas ukur, saringan dengan lubang berukuran 200 mesh (74  $\mu$ m), spatula, gelas objek, gelas beaker, gelas penutup, mikroskop cahaya, lemari es, timbangan digital, pipet tetes, alat tulis, McMaster slide, lembar kerja, dan kamera digital canon *powershot* A2300 HD.

#### 3.2.2.2. Bahan

Bahan yang digunakan di laboratorium adalah feses gajah sumatera, larutan NaCl jenuh, dan aquades. Larutan NaCl jenuh dibuat dengan cara melarutkan NaCl dengan 1 liter aquades sampai kristal NaCl tidak dapat larut lagi di dalam aquades (Al-Saraj, 2010).

### 3.3. Parameter Penelitian

Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis protozoa parasitik yang ditemukan pada metode natif dan jumlah protozoa per gram sampel feses yang ditemukan pada metode pengapungan (*flotation method*).

### 3.4. Metode Pengambilan Sampel

Populasi target adalah gajah sumatera di Pusat Konservasi Gajah, TNWK. Pengambilan sampel feses dilakukan dengan metode *stratified random sampling* (sampel acak terstratifikasi) berdasarkan jenis kelamin dan usia gajah sumatera.

Sampel feses diambil 20% dari 68 total populasi gajah sumatera di PKG yaitu 15 sampel feses terdiri dari lima gajah sumatera jantan dewasa berumur 19-36 tahun, lima gajah sumatera betina dewasa berumur 19-46 tahun, dan lima anak gajah sumatera berumur 1-3 tahun (Nurhayati, 2008).

Feses gajah sumatera yang diambil sebanyak 10% dari 1-3 kilogram jumlah total feses gajah pada saat defekasi (Cheeran, 2002) yaitu sebanyak 100-300 gram, dimasukkan ke dalam toples plastik yang sudah ditutupi dengan kertas karbon, dan diberi larutan kalium dikromat ( $K_2Cr_2O_7$ ) 2% secukupnya sampai sampel feses terendam. Botol plastik yang sudah dimasukan sampel feses diberi label berdasarkan urutan nomor pada lembar kerja.

Lembar kerja dibuat meliputi nama gajah, nama mahout (pawang), kondisi feses, lokasi pengambilan, waktu dan tanggal pengambilan, cuaca, dan kondisi tempat pada saat pengambilan feses

### **3.5. Prosedur Penelitian**

#### **3.5.1. Identifikasi Protozoa**

Untuk menentukan jenis dan keberadaan protozoa parasitik pada feses gajah sumatera digunakan metode pemeriksaan natif. Metode natif dapat digunakan untuk mengidentifikasi Amoeba, Flagellata, Ciliata dan ookista dari Coccidia (Apicomplexa) (Kofoid, 1935; Hoare, 1937; Lindsay *et al.*, 1997; Zaman, 1997; Van Hoven *et al.*, 1998; Al-Hindi, 2009; Santoso dkk., 2002; Duszynski *et al.*, 2007; Obanda *et al.*, 2007; Bassert dan McCurnin, 2010; Kwon dan Shin, 2013).

Pemeriksaan feses dengan metode natif dilakukan dengan cara feses gajah sumatera ditimbang sebanyak 8 gram, dimasukkan ke dalam gelas beaker, ditambahkan 30 ml aquades, dihomogenkan dan disaring. Hasil saringan diambil dengan pipet tetes, diteteskan di gelas objek dan diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran 40 kali (Levine, 1985; Bassert dan McCurnin, 2010).

Protozoa yang ditemukan selanjutnya diidentifikasi dan didokumentasikan. Identifikasi disesuaikan pada bentuk morfologi dan struktur dari hasil pengamatan dengan menggunakan rujukan atlas parasitologi kedokteran menurut Zaman (1997) dan Santoso dkk. (2002) serta jurnal parasitologi menurut Kofoid (1935), Hoare (1937), Lindsay *et al.* (1997), Van Hoven *et al.* (1998), Al-Hindi (2009), Duszynski *et al.* (2007), Obanda *et al.* (2007), dan Kwon dan Shin (2013).

### **3.5.2. Penghitungan Jumlah Ookista**

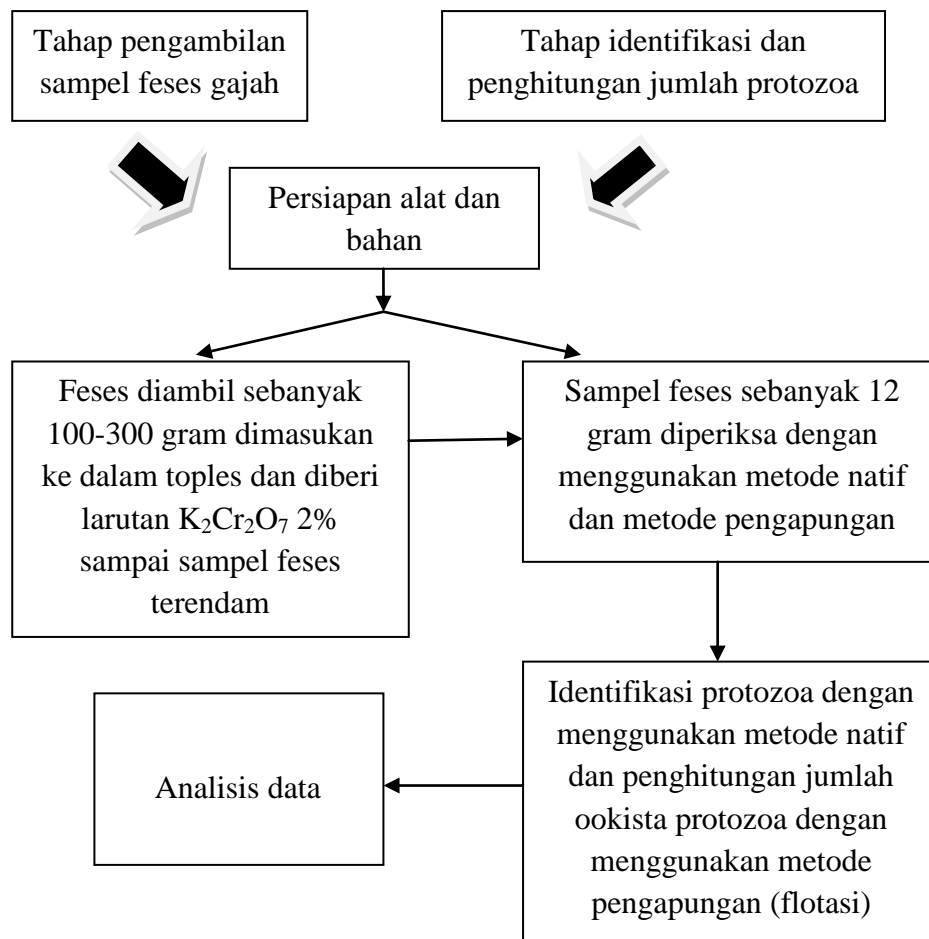
Untuk menghitung ookista dari coccidia digunakan metode pengapungan (*floatation method*) dengan alat hitung McMaster slide. Metode ini menggunakan prinsip pengapungan dengan larutan NaCl jenuh (Colville, 1991).

Penghitungan ookista dilakukan dengan cara feses gajah sumatera ditimbang sebanyak 2 gram dengan timbangan digital, dimasukkan ke dalam gelas beaker, ditambahkan 58 ml larutan NaCl jenuh, dihomogenkan dan kemudian disaring. Hasil saringan diambil menggunakan pipet tetes, diteteskan di dua kamar hitung pada McMaster slide, didiamkan selama 5 menit, dan diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran 10 kali (Colville, 1991; Nolan, 2006). Metode ini dilakukan dua kali pengulangan sehingga feses yang digunakan adalah 4 gram. Rumus penghitungan yang digunakan menurut Colville (1991) dan Nolan (2006) adalah sebagai berikut :

Jumlah ookista = Ookista yang ditemukan pada kamar hitung x 100  
(sel/gram)

### 3.6. Bagan Alir Penelitian

Proses penelitian ini dilakukan melalui dua tahap, yaitu tahap pengambilan sampel feses gajah sumatera, tahap identifikasi dan penghitungan jumlah ookista seperti bagan di bawah ini (Gambar 13).



Gambar 13. Bagan alir penelitian identifikasi dan penghitungan protozoa parasitik pada sampel feses gajah sumatera

### 3.7. Analisis Data

Analisis data dilakukan secara deskriptif melalui identifikasi protozoa dan hasil penghitungan protozoa. Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan didokumentasikan dalam bentuk foto. Penentuan angka prevalensi didapat dari jumlah gajah yang terinfeksi parasit protozoa dibagi dengan jumlah total gajah yang diperiksa menggunakan rumus :

$$\text{Prevalensi} = \frac{N}{S} \times 100 \% , \text{ dimana}$$

N : jumlah gajah sumatera positif terinfeksi protozoa

S : jumlah total gajah sumatera yang diperiksa (Gaspersz, 1991).