

III. MATERI DAN METODE

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini berlangsung pada bulan 8 Januari hingga 29 Januari 2024. Pengambilan sampel dilakukan di Unit Satwa K9 Polda Jawa Timur. Penelitian dilakukan ini di Laboratorium Patologi Klinik Universitas Wijaya Kusuma Surabaya, Kota Surabaya, Jawa Timur.

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Subyek dan Sampel Penelitian

Subyek penelitian ini adalah anjing pekerja di Unit Satwa K9 Polda Jawa Timur. Sampel yang akan digunakan yaitu darah anjing pekerja yang teridentifikasi ektoparasit caplak sebanyak 10 sampel. Pengambilan sampel darah anjing yaitu pada *vena cephalica*. Pengambilan sampel dari setiap masing-masing anjing 3 ml.

3.2.3 Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spuit 3 cc, tabung EDTA *white blood*, pot, tisu, mikroskop, rak, *cover glass*, torniquet, bok preparat, *gloves*, i.v Catheter, *cool box*, pipet thoma leukosit, kamar hitung *improved neubauere* dan *hematology analyzer* di laboratorium Patologi Klinik Universitas Wijaya Kusuma Surabaya.

3.2.4 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pewarnaan morfologi darah tepi (MDT), minyak emersi, air dan alkohol 70%.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode penelitian bio surveillance. Salah satu pendekatan penelitian yang digunakan untuk meneliti suatu yang belum diketahui, belum dikenali baik dan untuk mengetahui gambaran leukosit pada anjing pekerja akibat ektoparasit caplak di Unit Satwa K9 Polda Jawa Timur (Gunawan, 2022).

3.3.2 Variabel Pengamatan

Variabel penelitian ini ada 3 variabel yaitu bebas, kendali, terikat:

- Variabel Bebas : Anjing pekerja Terpapar ektoparasit caplak
- Variabel Tergantung : Perubahan gambaran Leukosit dan Identifikasi Ektoparasit caplak
- Variabel Kendali : Jenis kelamin dan jenis ras

3.3.3 Teknik Pengambilan Sampel

Sampel yang berupa ektoparasit caplak diambil dari tubuh anjing dan dilakukan pengambilan darah melalui *vena cephalica* pada anjing pekerja yang berada di Unit Satwa K9 Polda Jawa Timur.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Perlakuan pada Anjing

Anjing dilakukan *random sampling* dengan cara *scrining* penentuan kelompok dari jenis klamin dan identifikasi ektoparasit caplak. Setelah dilakukan *random sampling* pada anjing pekerja dilakukan pengambilan darah dan dilakukan secara bersamaan agar tidak terjadi perbedaan perlakuan pada setiap anjing pekerja. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan darah di Laboratorium Patologi Klinik Universitas Wijaya Kusuma Surabaya.

3.4.2 Pengambilan Darah

Darah pada anjing pekerja diambil melalui *vena cephalica*. Sebelum diambil darah, pada tempat pengambilan darah dibersihkan dengan alkohol 70% kemudian darah diambil menggunakan i.v catheter atau spuit 3 cc sebanyak 3 mL, kemudian darah dimasukkan ke tabung EDTA *white blood* sebagai antikoagulan. sampel darah pada tabung EDTA *white blood* dikocok searah angka 8 agar plasma darah homogen.

3.4.3 Pembuatan Preparat Ulas Darah

Darah pada tabung EDTA *white blood* diambil menggunakan spuit dan diteteskan pada gelas objek. Kemudian dengan gelas objek yang lain diletakkan dengan sudut 30° - 45° hingga menyebar sepanjang tepi gelas objek, pada tetesan darah ditarik lurus sampai ujung preparat hingga tipis. Glass objek diletak diatas rak pewarnaan selama 5 menit, kemudian tahap fiksasi dengan cara ditetesi dengan methanol dengan merata lalu keringkan.

Tahap selanjutnya ditetesi menggunakan eosin dengan hitungan detik, kemudian ditetaskan metylen blue dengan merata setelah itu preparat bilas dengan air mengalir dan langkah terakhir keringkan (Ardina, 2018).

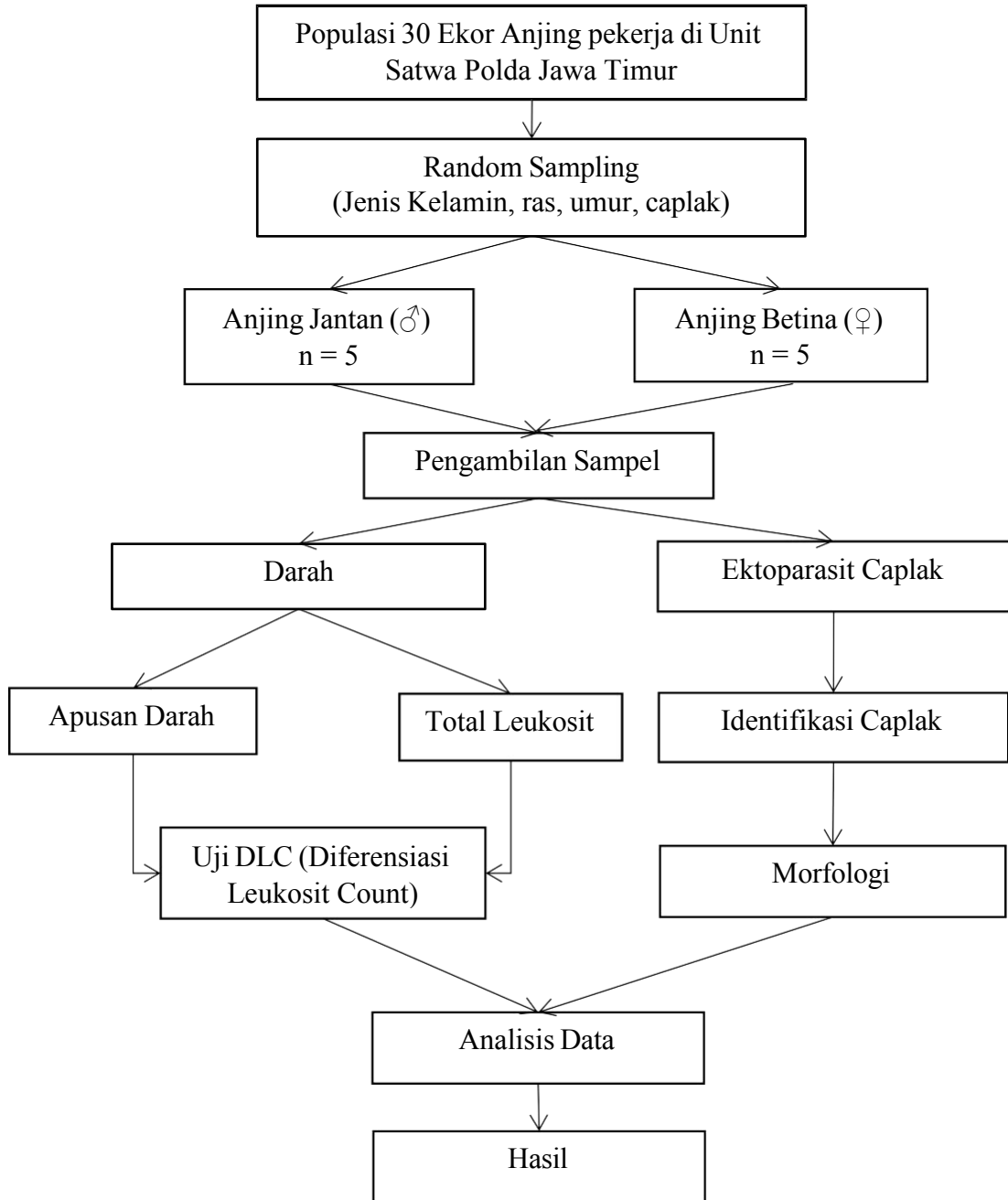
3.4.4 Penghitungan Total Leukosit

Darah segar dimasukkan ke dalam tabung EDTA *white blood* diambil menggunakan pipet thoma leukosit hingga angka 0,5 lalu diambil larutan turk sampai angka 11 kemudian diputar searah angka delapan selama 3 menit menggunakan alat dari pipet 1-2 tetes dibuang dan pada kamar hitung *haemocytometer*. Pada jumlah leukosit dapat dihitung dari empat sudut kamar hitung (Shahab dan Mudji, 2014).

3.4.5 Diferensiasi Leukosit

Preparat ulas yang telah diwarnai diperiksa dibawah mikroskop dengan perbesaran 100 x 10 kali menggunakan minyak emersi. Pada pengamatan diferensiasi leukosit berdasarkan pengamatan menghitung jumlah neutrofil, eosinofil, basofil, limfosit dan monosit. Kemudian setiap perhitungan 100 leukosit yang ditemukan dihitung. Nilai absolut diperoleh dilakukan perhitungan diferensiasi leukosit count dengan menggunakan rumus (Cahyaningsih, 2019).

3.5 Kerangka Operasional Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Operasional Penelitian

3.6 Analisis Data

Data identifikasi ektoparasit caplak dilakukan secara kualitatif deskriptif dengan uji non parametrik dan Data yang diperoleh merupakan data kuantitatif yang akan dianalisa dengan menggunakan SPSS 16 menggunakan Paired sample T-test atau dikenal dengan Uji T. Berpasangan untuk mengetahui hubungan data dan perbedaan data. Uji ini mempergunakan kepercayaan 95%. Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang sangat nyata.

