

III. MATERI DAN METODE

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi pengambilan sampel darah dan sampel hepar kambing dan domba diambil pada saat pemotongan hewan kurban pada bulan Juni 2023 di Surabaya. Pembuatan preparat histopatologi dan pemeriksaan darah hemoglobin dan hematokrit dilakukan di Laboratorium Patologi Universitas Wijaya Kusuma Surabaya. Penelitian ini akan dilakukan pada bulan Juni 2023 – Februari 2024.

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan adalah 6 sampel darah kambing, 6 sampel darah domba, 6 hepar kambing, dan 6 hepar domba yang diambil pada saat pemotongan hewan kurban di Masjid Thaybah Kecamatan Sukolilo Kota Surabaya.

3.2.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kantong plastik, glove, alat tulis, pisau, tissue, timbangan digital, *embedding cassette*, *automatic tissue processor machine*, mikrotom, waterbath, *slide/object glass*, *cover glass*, rak slide staining, *slide staining jare with lids*, mikroskop, *cool box*, tabung EDTA, *sprit 3 cc*, haemometer sahli,

pipet pasteur, tabung hemoglobin, batang pengaduk, mikrohematokrit reader, *sentrifuse*.

3.2.3 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan meliputi 6 hepar kambing, 6 hepar domba, 6 sampel darah kambing dan 6 sampel darah domba yang diambil pada saat pemotongan hewan kurban di Masjid Thaybah, air, Methylene Blue 1%, es batu dan reagen. Bahan pewarnaan Hematoksin – eosin (HE), formalin 10%, alkohol seri (70%, 80%, 90%, 95%, 100%), xylol, parafin, aquades, HCl 0,1 N.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Jenis Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan jenis penelitian *biosurveillance* dengan mengambil sampel dilapangan. Nilai normal dengan melihat hasil darah hemoglobin dan hematokrit pada kambing dan domba dan metode skoring dengan melihat gambaran histopatologi hepar kambing dan domba.

3.4 Prosedur Penelitian

Sampel darah 6 sampel darah kambing dan 6 sampel darah domba dengan pengambilan sampel darah pada *vena jugularis* menggunakan *sprit 3 cc*. setelah pengambilan sampel darah dimasukan ke dalam tabung EDTA lalu dihomogenkan seperti angka 8 dan diberi kode dan masukan ke dalam *cooling*

box. Setelah selesai pengambilan sampel dikirim ke Laboratorium Patologi Universitas Wijaya Kusuma Surabaya untuk di uji pemeriksaan darah hemoglobin dan hematokrit dengan pengecekan manual (Yupardhi, dkk., 2014)

3.4.1 Pemeriksaan Hemoglobin

Pemeriksaan hemoglobin menggunakan metode sahli. Metode sahli adalah metode pemeriksaan haemoglobin yang dilakukan secara visual. Pemeriksaan hemoglobin yang pertama dengan memasukkan HCl 0,1 N pada tabung sahli sampai tanda 2, lalu isi pipet sahli dengan sampel darah yang mengandung antikoagulan sampai tanda 20 ml. Hapus darah yang tersisa pada pipet dengan tissue, masukan kedalam tabung sahli dan campur sampai merata menggunakan batang pengaduk. Tunggu selama 10 menit sampai hemoglobin berubah menjadi asam hematin. Teteskan aquades pada tabung dengan menggunakan pipet, kemudian aduk dengan batang pengaduk, teteskan aquadest sedikit demi sedikit kemudian diaduk sampai sama dengan warna standar dan dilakukan pembacaan (Kusumawati, dkk., 2018).

3.4.2 Pemeriksaan Hematokrit

Pemeriksaan hematokrit menggunakan metode mikrohematokrit reader. Prosedur pemeriksaan hematokrit pertama sampel darah dimasukkan ke dalam tabung kapiler sampai 3/4 volume tabung. Salah satu ujung tabung ditutup dengan malam lalu letakkan pada sentrifus mikrohematokrit dan disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan

15.000 rpm. Tinggi kolom eritrosit diukur dengan alat pembaca hematokrit reader, nilainya dinyatakan dalam % (Chairani, dkk., 2022).

3.4.3 Pemeriksaan Hepar

Sampel hepar 6 hepar kambing dan 6 hepar domba diambil pada saat pemotongan hewan kurban di Masjid Thaybah kecamatan Sukolilo kota Surabaya yang dimasukkan ke dalam pot masing-masing diberi formalin 10% dan diberi kode pada tiap pot, kemudian dimasukkan kedalam *cool box* agar sampel tidak rusak dan tidak terkontaminasi dengan organisme lain. Setelah pengambilan sampel, dilanjutkan pembuatan preparate histopatologi di Laboratorium Patologi Universitas Wijaya Kusuma Surabaya, selanjutnya pembuatan preparat histopatologi menggunakan metode fiksasi, trimming, dehidrasi, clearing embedding, blocking, pewarnaan dan pemotongan jaringan untuk melihat adanya sel hemoragi, dan nekrosis (Pratiwi dan Manan, 2015).

3.4.4 Nilai Normal

Nilai normal hasil pemeriksaan kadar hemoglobin, dan nilai hematokrit pada kambing dan domba. Analisis hasil hematologi dengan metode sahli pada nilai hemoglobin dan mikrohematokrit reader pada nilai PCV.

Tabel 3.1 Nilai normal hemoglobin dan hematokrit (Rahayu, dkk., 2017)

Hewan	Hemoglobin (g/dL)	Hematokrit (%)
Kambing	8 -12 g/dL	24-48 %
Domba	8 - 16 g/dL	28-38%

3.4.5 Cara Skoring Histopatologi

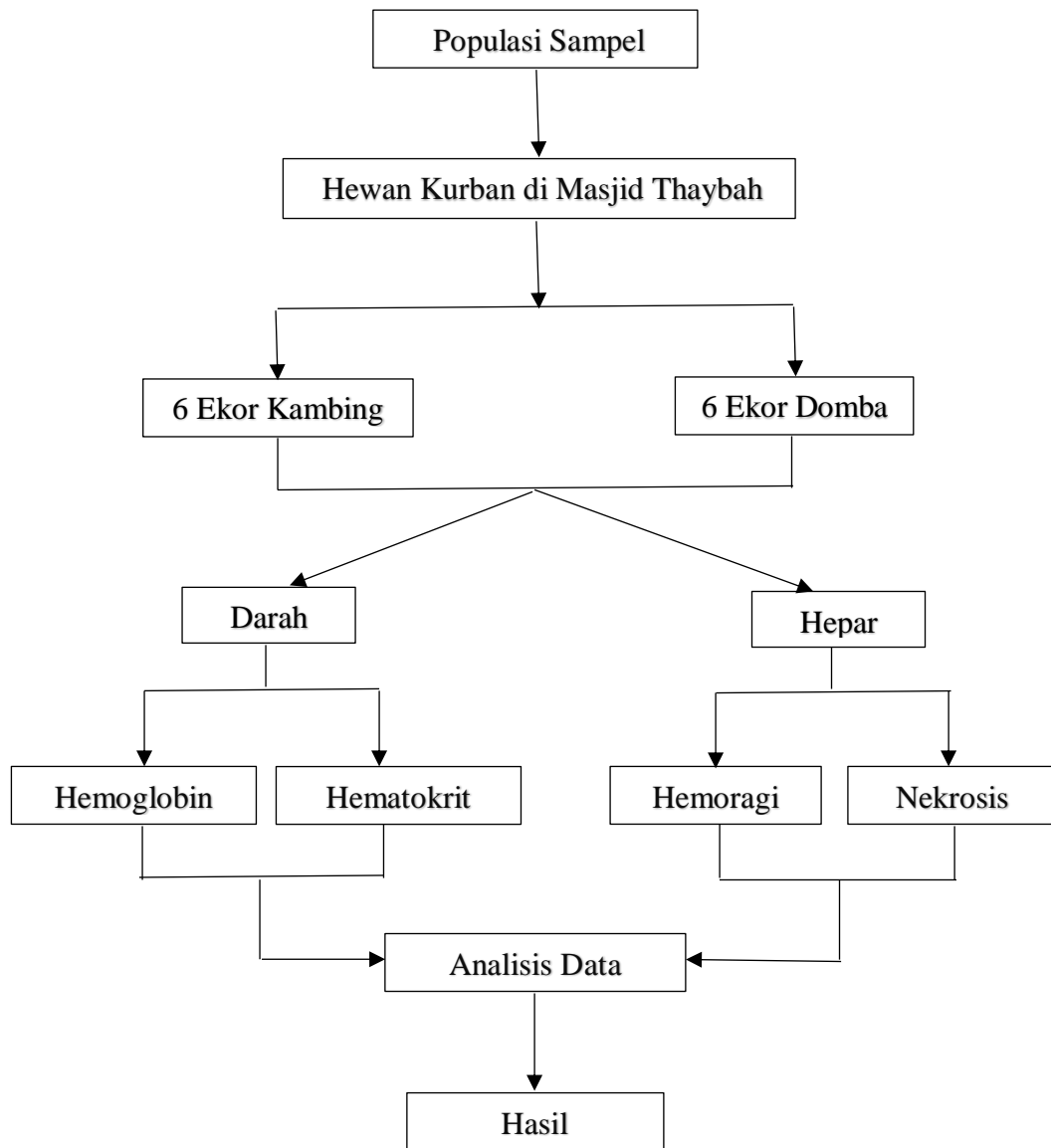
Penelitian ini pada masing-masing preparat dibaca dalam 5 lapangan pandang yaitu kanan atas - kiri atas - kiri bawah - kanan bawah - tengah preparat dengan perbesaran 40x, serta dianalisis menggunakan mikroskop cahaya untuk dinilai tingkat kerusakan pada hepar. Derajat kerusakan hepar ditentukan dengan dilihat dari 2 parameter yaitu kelompok Hemoragi, dan Nekrosis.

Tabel 3.2 Standar Metode Skoring (Maftuch, dkk., 2015)

Skor	Hemoragi
0	Tidak terjadi Hemoragi
1	Jaringan Hemoragi <30% dari seluruh LP
2	Jaringan Hemoragi 30-70% dari seluruh LP
3	Jaringan Hemoragi >70% dari seluruh LP

Skor	Nekrosis
0	Tidak terjadi perubahan nekrotik
1	Jumlah nekrotik <30% dari seluruh LP
2	Jumlah nekrotik 30-70% dari seluruh LP
3	Jumlah nekrotik >75% dari seluruh LP

3.5 Kerangka Penelitian



3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil darah hemoglobin dan hematokrit pada kambing dan domba disusun dalam bentuk tabel untuk dianalisis menggunakan uji *one way anova* dan data skoring nilai histopatologi yang meliputi hemoragi dan nekrosis pada hepar kambing dan domba, disusun dalam bentuk tabel untuk dianalisis menggunakan metode non-parametrik. Kemudian data dianalisis statistik menggunakan *Statistical Program for Social Science* (SPSS) dengan uji *Kruskal Wallis Test* untuk mengetahui perbedaan dan dilanjutkan dengan uji *Mann - Whitney Test*, untuk menentukan perbedaan masing-masing kelompok (Winiastri, 2021).