

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif. Penelitian deskriptif adalah penelitian yang bertujuan untuk mendeskripsikan dan memaparkan suatu gejala, peristiwa dan kejadian yang terjadi (Sugiyono, 2017). Dalam hal ini peneliti melakukan penelitian mengenai identifikasi jamur *Candida sp.* pada air bak toilet umum di Pasar Tradisional Kota Denpasar Barat.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

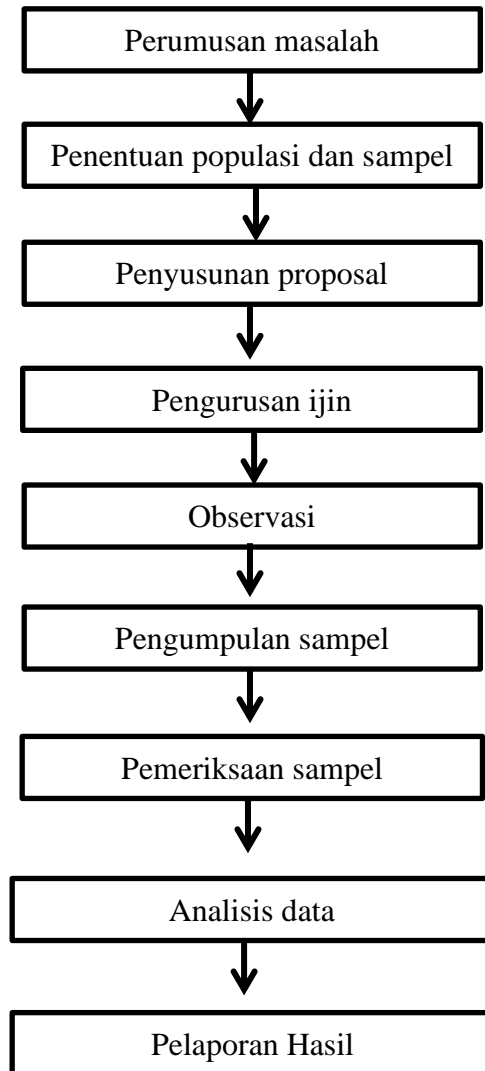
1. Tempat Penelitian

Pengambilan sampel untuk penelitian dilakukan di Pasar Tradisional Kota Denpasar Barat yang toilet nya masuk ke dalam kriteria, pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis.

2. Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan dari bulan Februari-Mei 2022. Penelitian ini dilaksanakan sambil menjalankan protokol kesehatan COVID-19.

C. Alur Penelitian



Gambar 5. Alur Penelitian

D. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah masing-masing toilet yang memiliki bak penampung air permanen di Pasar Tradisional Kota Denpasar Barat sebanyak 31 toilet.

2. Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah air bak toilet di Pasar Tradisional Kota Denpasar Barat.

a. Unit Analisis

Unit Analisis dalam penelitian adalah jamur *Candida sp.* pada air bak toilet.

b. Kriteria Sampel

Adapun kriteria dari sampel penelitian ini yaitu air bak dari toilet yang menggunakan bak penampung air permanen.

c. Jumlah dan besar sampel

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah 31 sampel air bak toilet yang sesuai kriteria yang didapatkan dari hasil observasi.

d. Teknik pengambilan sampel

Dalam penelitian ini pengambilan sampel dengan teknik *nonprobability* sampling secara *Saturation sampling*/sampel jenuh. Teknik sampling jenuh adalah cara pengambilan sampel dimana semua anggota populasi digunakan sebagai sampel (Sugiyono, 2017). Pengambilan dilakukan hanya pada toilet yang memiliki bak penampung air permanen. Dalam penelitian ini pengambilan sampel air bak toilet secara aseptis.

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

a. Data primer

Data primer dalam penelitian ini adalah jumlah toilet umum yang memiliki bak penampung air permanen di Pasar Tradisional Kota Denpasar Barat, dan hasil

identifikasi *Candida sp.* dari air bak toilet umum yang diperoleh dari hasil pemeriksaan laboratorium.

b. Data sekunder

Data sekunder yang dikumpulkan pada penelitian ini diperoleh dari penelitian sebelumnya meliputi jurnal, karya tulis ilmiah, skripsi, dan thesis yang berhubungan dengan penelitian ini.

2. Cara pengumpulan

a. Observasi

Observasi berfungsi untuk melengkapi format pengamatan. Observasi yang dilakukan yaitu melihat apakah toilet umum tersebut memiliki bak penampung air permanen atau tidak.

b. Pemeriksaan laboratorium

Pengumpulan data yang dilakukan yaitu berdasarkan hasil pemeriksaan laboratorium air bak toilet umum mengenai identifikasi *Candida sp.*

3. Instrumen pengumpulan data

Instrumen yang digunakan untuk pengumpulan data yaitu :

- a. Kamera untuk dokumentasi
- b. Alat tulis
- c. Alat untuk pemeriksaan laboratorium

F. Alat Bahan dan Prosedur

1. Alat

- a. Neraca analitik (AS 220.R2, Radwag) (1 buah)
- b. Erlenmeyer (Iwaki-Pyrex®) 250 ml (3 buah)
- c. Spatula (1 buah)

- d. Gelas ukur (Iwaki- 23 Pyrex®) 500 ml (1 buah)
- e. Magnetic dan stirrer (J-HMS, Jisico) (1 buah)
- f. Batang pengaduk (1 buah)
- g. Autoclave (SX-500, TOMY)(1 buah)
- h. Botol steril (31 buah)
- i. Petridish steril (31 buah)
- j. Indikator ph universal
- k. Lampu spiritus (1 buah)
- l. Ballpipet (d & n ball pipet) (1 buah)
- m. Pipet ukur (Iwaki-Pyrex®) 20 ml (1 buah)
- n. Pipet tetes
- o. Kapas steril
- p. Micropipet 50-500 µl
- q. Inkubator (T01892, Esco) (1 buah)
- r. Jarum Ose (1 buah)
- s. Centrifuge (CD-0412-50, Phoenix) (1 buah)
- t. Tabung centrifuge (31 buah)
- u. Oven (wagtech) (1 buah)
- v. Cool box (1 buah)
- w. Kaca objek (31 buah)
- x. Kaca penutup (31 buah)
- y. Mikroskop binokuler (CX 21, Olympus) (1 buah)
- z. APD (Handscoon, masker, jas lab)

2. Bahan

- a. Air bak toilet
- b. Aquades
- c. Larutan LCPB (*Lactophenol Cotton Blue*)(Merck) 5 mL
- d. NaOH 0.01 10 ml
- e. HCl 0.01 N 10 ml
- f. Alkohol 70%
- g. Media SDA(*Sabouraud Dextrose Agar*) (Oxoid) 45,5 gr
- h. Serum
- i. Aluminium foil
- j. Kloramfenikol

3. Prosedur kerja

- a. Penampungan air bak toilet

Menurut Asmarani, dkk (2018) prosedur pengambilan sampel air bak toilet sebagai berikut :

- 1). Sampel pada bak toilet homogenkan dengan cara diaduk.
- 2). Sampel kemudian diambil menggunakan botol steril
- 3). Kemudian sampel yang tidak segera diperiksa dalam waktu 2 jam segera di masukkan pada ice box berisi cooling box.

- b. Pembuatan media SDA

Adapun prosedur pembuatan media SDA yaitu sebagai berikut (Safitri dan Novel, 2010) :

- 1). Digunakan APD yang lengkap, baik dan benar.
- 2). Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- 3). Dipastikan semua alat dan bahan siap untuk digunakan.

- 4). Ditimbang serbuk media SDA dengan volume yang sesuai :

Rumus :

V1 = volume yang tertera pada etiket kemasan

V2 = volume media yang akan dibuat (ml)

W1 = berat media yang tertera pada kemasan (gr)

W2 = Berat media yang akan ditimbang (gr)

- 5). Dipindahkan media SDA yang telah ditimbang ke dalam gelas beker.
 - 6). Ditambahkan akuades pada gelas beker yang telah berisi media, lalu dipindahkan ke dalam erlenmeyer.
 - 7). Dihomogenkan larutan dengan bantuan magnetic stirrer dengan suhu $\leq 100^{\circ}\text{C}$.
 - 8). Dicek pH larutan sesuai petunjuk (ph 5,6) pada keadaan suhu 25°C .
 - 9). Ditambahkan larutan NaOH 0,01 N jika keadaan larutan SDA asam, dan ditambahkan larutan HCl 0.01 N jika larutan SDA keadaan basa.
 - 10). Ditutup larutan lalu disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit.
 - 11). Di keluarkan media setelah proses sterilisasi selesai
 - 12). Dibiarkan larutan hingga suhu kurang lebih 50°C kemudian ditambahkan kloramfenikol 250 mg, sebelumnya antibiotik kloramfenikol 250 mg telah dilarutkan dengan 10 ml aquades dan tiap 100 ml SDA ditambahkan 1 ml suspensi kloramfenikol.
 - 13). Dihomogenkan media yang telah berisi antibiotik kloramfenikol dapat dibantu pemanasan dengan suhu $\leq 70^{\circ}\text{C}$.
 - 14). Media siap dituang pada cawan petri steril.
- c. Kultur *Candida sp.* pada air bak toilet dengan media SDA menurut Asmarani, dkk (2018) :

- 1). Dimasukkan sampel pada tabung centrifuge secara aseptik kemudian ditutup dengan kapas steril dan dicentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 2000 rpm.
 - 2). Kemudian membuang sampel air bagian atas hingga menyisakan 1cc bagian paling bawah.
 - 3). Sampel yang telah *dicentrifuge* dituang pada plate steril sebanyak 1cc secara aseptik dan menambahkan media SDA ditunggu sampai memadat.
 - 4). Selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 72 jam.
 - 5). Dilakukan pengamatan makroskopis pada media yang telah diinkubasi, yaitu diamati permukaan koloni halus dan licin, berwarna putih atau kekuning-kuningan dan berbau ragi.
 - 6). Selanjutnya koloni diamati dengan mikroskopis.
- d. Pemeriksaan *Candida sp.* secara mikroskopis

Pemeriksaan biakan jamur secara mikroskopis dapat dilakukan menggunakan pewarnaan larutan *Lactophenol Cotton Blue* (LPCB), dengan cara sebagai berikut (Sri Linuwih dan Menaldi, 2015):

- 1). Dibuat preparat koloni jamur.
- 2). Diambil koloni jamur yang tumbuh pada titik tengah antara bagian tepi dan pusat koloni.
- 3). Diletakkan sampel diatas kaca objek yang telah dibersihkan dengan alkohol 70%.
- 4). Ditambahkan 1-2 tetes larutan LPCB ke atas kaca objek.
- 5). Ditutup dengan kaca penutup dan didiamkan selama 20 menit.
- 6). Diamati sediaan dengan mikroskop dengan pembesaran objektif 10× dan 40×.

7). Dilaporkan hasil pengamatan adanya ragi berbentuk bulat atau lonjong, terdapat blastospora, pseudohifa, dan klamidiospora.

8). Dilanjutkan dengan pemeriksaan *germ tube*.

e. Pemeriksaan *germ tube*

Adapun prosedur pemeriksaan *germ tube* yaitu (Mulyati, dkk., 2010) :

1). Dimasukkan serum sebanyak 0,5 ml kedalam tabung eppendorf.

2). Ditambahkan koloni jamur *Candida* dari media SDA.

3). Sebagai kontrol uji *germ tube*, ditambahkan koloni *Candida albicans* ATCC 10231 pada 0,5ml serum.

4). Inkubasi selama 2,5 jam pada suhu 37⁰ C.

5). Dibuat preparat dari serum yang telah diinkubasi.

6). Diamati pada mikroskop dengan pembesaran objektif 10× dan 40×.

7). Dilaporkan hasil pengamatan adanya *germ tube*.

G. Pengolahan dan Analisis Data

1. Teknik pengolahan data

Setelah data terkumpul, maka dilakukan pengolahan data melalui tahapan editing, coding, dan tabulating.

a. Editing

Editing adalah pemeriksaan ulang terhadap data hasil penelitian meliputi kelengkapan data, keseragaman data, kebenaran pengisian data, dll.

b. Coding

Coding adalah kegiatan mengubah data berbentuk kalimat atau huruf menjadi data angka atau bilangan (Notoatmodjo, 2012).

c. Tabulating

Tabulasi yaitu membuat tabel data sesuai dengan tujuan penelitian atau yang diinginkan oleh peneliti (Notoatmodjo, 2012). Dalam penelitian ini data disajikan dalam bentuk tabel yang menggambarkan hasil Identifikasi jamur *Candida sp.* pada air bak toilet umum di Pasar Tradisional di Kota Denpasar Barat.

2. Analisis data

Data yang didapatkan digolongkan sesuai ada tidaknya *Candida sp.* Kemudian dari penggolongan tersebut dilakukan analisa data secara deskriptif untuk membuktikan ada tidak nya jamur *Candida albicans* yang didapatkan dari pemeriksaan.