

BAB III METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian adalah Deskriptif yang menggambarkan pencemaran *Candida albicans* pada air bak toilet di Rest Area KM 87A Tol Sumatera.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan di Rest Area KM 87A Tol Sumatera. Pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Mikologi Jurusan Analisis Kesehatan Poltekkes Tanjungkarang pada bulan Mei-Juni 2021.

C. Subjek Penelitian

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah seluruh air di bak toilet di Area KM 87A Tol Sumatera sebanyak 10 bak penampung air yang terdiri dari 5 bak toilet wanita dan 5 bak toilet pria.

2. Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah sebagian air yang di tampung pada 5 bak toilet wanita dan 5 bak toilet pria di Rest Area KM 87A Tol Sumatera.

D. Variabel dan Definisi Oprasional

Tabel 3.2 Variabel dan Definisi Operasional Penelitian

Jenis Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i> pada media padat Sabouraud agar dengan ciri Koloni tumbuh berbentuk bulat, menonjol, permukaan halus, licin, warna putih kekuningan dan berbau ragi, dan secara mikroskopis dengan pewarnaan Gram <i>Candida sp</i> bentuk blastospora yaitu bulat, lonjong, berwarna ungu dan bersifat Gram positif. Dengan germ	Secara Makroskopis Dan Mikroskopis	Media SDA, Cawan petri, Inkubator Dan Mikroskop	Makroskopis: (+) <i>Candida albicans</i> Mikroskopis: Dengan cat gram (+) <i>Candida</i> Dengan <i>grem tube</i> (+) <i>Candida albicans</i>	Ordinal

	tube <i>Candida albicans</i> berbentuk sel ragi berkecambah.				
Air bak toilet umum	Air yang ditampung dalam bak toilet umum Rest Area Tol Trans Sumatra.	Observasi	Lembar observasi	1. Memenuhi syarat : Air tidak berbau, berasa dan warna. 2. Tidak Memenuhi syarat : Air berbau, berasa dan berwarna (Permenkes RI No 32 tahun 2017)	Ordinal

E. Pengumpulan Data

Pengumpulan data dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut :

1. Prosedur Penelitian

- a. Menyelesaikan surat izin dari jurusan Analis Kesehatan.
- b. Mengirim surat izin tersebut ke Rest Area KM 87A Tol Trans Sumatera.
- c. Meminta izin kepada petugas di Rest Area KM 87A Tol Trans Sumatera.
- d. Menjelaskan kepada petugas toilet umum rest area tujuan pengambilan sampel.
- e. Pengambilan sampel berupa air di bak toilet dilakukan satu hari pada pagi hari.
- f. Membawa sampel ke laboratorium untuk dilakukan pemeriksaan selama satu minggu.
- g. Menarik kesimpulan hasil pemeriksaan.

2. Pengambilan Sampel

- a. Pengambilan sampel air dilakukan satu hari pada pagi hari.
- b. Sampel diambil dari masing-masing air di bak toilet, di Rest Area KM 87A Tol Sumatra, sebelum dilakukan pengambilan sampel, air yang ada didalam bak diaduk terlebih dahulu.
- c. Sampel diambil menggunakan botol penampung yang sudah distrerilkan, volume botol paling sedikit 100ml. Kemudian pembungkus botol dibuka, lalu buka tutup botol dan masukan botol secara perlahan ke dalam air bak minimal 20cm di bawah permukaan air, setelah botol terisi penuh buang

sebagian isi botol hingga volumenya $\pm \frac{3}{4}$ volume botol, lalu mulut botol dibakar dan ditutup kembali (SNI 06-2412-1991).

- d. Beri label pada masing-masing botol sampel dengan menuliskan kode sampel, tanggal pemeriksaan dan jam pengambilan sampel, selanjutnya sampel dimasukkan dalam kotak pendingin dan dibawa ke Laboratorium Parasitologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medik Poltekkes Tanjungkarang untuk dilakukan pemeriksaan.

3. Prosedur Kerja Pemeriksaan

a. Metode Pemeriksaan

Metode pemeriksaan yang digunakan pada penelitian adalah secara makroskopis dan mikroskopis.

b. Prinsip Pemeriksaan

1) Prinsip Tes Kultur Pada Media *Sabouraud Dextrose Agar*

Jamur akan tumbuh bila berada pada lingkungan menguntungkan dan tersedia nutrisi yang memadai. Suhu optimal untuk pertumbuhan jamur pada umumnya 37°C (Hardjoeno, 2007).

2) Prinsip Tes Sub Kultur Jamur

Jamur lebih produktif menghasilkan filament-filamennya (*grem tubes*) bila diinkubasikan pada suhu 37°C dengan serum yang mengandung kompleks asam amino dan karbohidrat yang tinggi (Hardjoeno, 2007).

c. Alat dan Bahan

1) Alat yang digunakan pada penelitian yaitu : Cawan petri, ose, botol penampung sampel, objek glass, deck glass, mikroskop, Erlenmeyer, pipet tetes, pipet ukur, batang pengaduk, botol regen, tabung reaksi, neraca analitik, Bunsen, autoklaf, inkubator, kompor pemanas, kotak pendingin, isolasi, alumunium foil.

2) Bahan yang digunakan pada penelitian yaitu : media Sabouraud Dextrose Agar, Chloramphenicol, Cat gram A, Cat gram B, Cat gram C, Cat gram D, Aquadest, NaCl 0,85%, dan minyak emersi.

d. Pemeriksaan Secara Makroskopis/Kultur

- 1) Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- 2) Sampel dihomogenkan terlebih dahulu, lalu pipet 1ml kemudian tuangkan ke media *Sabouraud Dextrose Agar*.
- 3) Ratakan sampel dengan menggunakan ose ke seluruh permukaan media, lalu tutup cawan petri dan diselotip untuk menjaga kelembapan.
- 4) Biakan diinkubasi dengan suhu 37°C selama 48 jam dan diamati pertumbuhan jamur setelah 48 jam (Hardjoeno, 2007).

e. Pemeriksaan Secara Mikroskopis

- 1) Koloni yang tumbuh di media *Sabouraud Dextrose Agar* diambil menggunakan ose, kemudian diletakan di tengah objek glass dan dibuat preparat dan ditambah dengan NaCl 0,85% lalu dihomogenkan.
- 2) Kemudian melakukan pengecatan Gram, objek glass diletakkan pada rak cat.
- 3) Satu tetes Gram A diteteskan pada objek glass, diamkan selama 1 menit kemudian dicuci dengan air mengalir.
- 4) Satu tetes Gram B diteteskan pada objek glass, diamkan selama 1 menit kemudian bilas dengan air mengalir
- 5) Satu tetes Gram C diteteskan pada objek glass, diamkan selama 30 detik kemudian bilas dengan air mengalir
- 6) Satu tetes Gram D diteteskan pada objek glass, diamkan selama 30 detik kemudian bilas dengan air mengalir
- 7) Objek glass yang telah dicat dikeringkan di udara dan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x (Soemarno,2000).

f. Pemeriksaan Lanjut Secara Sub Kultur

- 1) Siapkan alat dan bahan yang digunakan.
- 2) Tabung diisi dengan cairan putih telur atau serum sebanyak 1-2 ml kemudian dimasukkan ke dalam incubator pada suhu 37°C selama 15-30 menit.
- 3) Media dikeluarkan dari inkubator dan siap digunakan.

- 4) Koloni *Candida* diambil sedikit dengan ose yang sudah dipanaskan di api bunsen kemudian dimasukkan ke dalam media cair.
- 5) Hancurkan koloni *Candida* sampai koloni jamur terurai kemudian di inkubasi pada suhu 37°C selama 2-3 jam (Jamilatun,2018).

g. Pemeriksaan Kondisi Fisik Air Bak

1) Bau

Pemeriksaan bau air dilakukan dengan menggunakan indra penciuman yaitu dengan cara mencium bau air.

2) Rasa

Pemeriksaan rasa air dilakukan dengan menggunakan indra perasa yaitu dengan cara mencicipi rasa air

3) Warna

Pemeriksaan warna air dilakukan dengan menggunakan indra penglihatan yaitu dengan memasukan air ke dalam gelas bening lalu diamati warnanya (Andini, 2017).

4. Interpretasi Hasil

a. Makroskopis

Hasil setelah 2x24 jam Warna koloni yang terlihat, warna koloni putih kekuningan, bentuk koloni bulat, ukuran koloni 3-6 µm, permukaan koloni halus, licin, cembung dan berbau ragi.

b. Mikroskopis

Pada pewarnaan Gram *Candida sp* didapatkan hasil, bentuk blastospora yaitu bulat, lonjong, berwarna ungu dan bersifat Gram positif.

c. Sub Kultur

Pembacaan hasil : dengan cara membuat preparat dari media cair yang terdapat *Candida* di dalamnya, kemudian di amati menggunakan mikroskop. Hasil dinyatakan positif bila ditemukan sel ragi yang berkecambah (*germ tube* (+)) dan dinyatakan negatif bila yang tumbuh hanya blastospora atau sel ragi.

d. Kondisi Fisik

Tidak berbau, tidak berasa, dan tidak berwarna.

F. Pengolahan dan Analisa Data

Data hasil pemeriksaan identifikasi *Candida albicans* pada air bak toilet dan hasil observasi pada kondisi bak toilet disajikan dalam bentuk tabel. Data hasil pemeriksaan dianalisis dengan menggunakan analisis univariat untuk mendapatkan persentase air bak toilet yang tercemar *Candida albicans*.

Perhitungan persentase yaitu:

$$N = \frac{a}{b} \times 100\%$$

Keterangan :

N : Persentase sampel yang positif *Candida albicans*

a : Jumlah sampel yang positif *Candida albicans*

b : Jumlah sampel yang diperiksa