

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan rancangan penelitian

Jenis penelitian ini deskriptif, dengan variabel bebas yaitu air bak mandi di Pondok Pesantren Raudhotul Jannah Sidokerto Lampung Tengah dan variabel terikat yaitu jamur *Candida sp* pada air bak mandi.

B. Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan di lingkungan santriwati Pondok Pesantren Raudhotul Jannah Sidokerto Lampung Tengah dan pemeriksaan akan dilakukan di Laboratorium Parasitologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Tanjungkarang pada bulan Februari-Maret 2025.

C. Subjek penelitian

1. Populasi

Populasi penelitian ini adalah air bak mandi yang berada di lingkungan santriwati Pondok Pesantren Raudhotul Jannah Sidokerto Lampung Tengah sebanyak 30 air bak mandi.

2. Sampel

Sampel penelitian ini adalah sampel air yang diambil pada air bak mandi di asrama santriwati Pondok Pesantren Raudhotul Jannah Sidokerto Lampung Tengah yang masuk dalam kriteria berjumlah 10 sampel.

Adapun kriteria yaitu, Air bak mandi keruh, berwarna dan berbau. (Dapartemen kesehatan RI, 2017).

D. Definisi operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

No	Variabel Penelitian	Definisi	Cara ukur	Alat ukur	Hasil ukur	Skala ukur
1	Variabel bebas air bak mandi	Yang digunakan santriwati dalam sehari-hari.	Observasi	Lembar Observasi	1. Baik air yang jernih, tidak berbau, tidak berwarna. 2. Tidak baik air yang tidak jernih, berwarna, berbau. (Dapartemen Kesehatan RI, 2017).	Ordinal
2	Variabel terikat jamur <i>Candida sp</i>	Makroskopis: koloni berwarna putih ke kuningan, permukaan halus, berbau ragi, licin cembung. Mikroskopis: pewarnaan gram bentuk blastospora yaitu bulat lonjong, berwarna ungu, susunan berkelompok.	Makroskopis dan Mikroskopis	Media SDA, Cat Gram, Mikroskop	1. Positif ditemukan jamur <i>Candida sp</i> 2. Negatif tidak ditemukan jamur <i>Candida sp</i> .	Ordinal

E. Pengumpulan data

Data yang telah dikumpulkan dilakukan melalui observasi terhadap kondisi air bak mandi. Proses pengambilan data sebagai berikut :

- Menyelesaikan surat izin
- Meminta izin kepada pemilik Pondok Pesantren Raudhatul Jannah Sidokerto Lampung Tengah.
- Menjelaskan tujuan pengambilan sampel
- Pengambilan sampel pemeriksaan berupa air bak mandi
- Membawa spesimen ke laboratorium untuk dilakukan pemeriksaan
- Menarik kesimpulan hasil pemeriksaan

1. Persiapan alat dan bahan

a. Alat

Alat yang digunakan adalah isolasi, tali, bunsen, erlenmeyer, botol reagen, objek glass, spatula, autoclave, cawan petri, incubator, oven, pipet tetes, mikroskop, aluminium foil, neraca analitik, kompor pemanas, ose ujung bulat, katenbat steril, kotak pendingin, batang pengaduk, plate, gelas volume, lemari laminar.

b. Bahan

Cholarmphenicol, media *Sabouroud Dextrose Agar*, minyak imersi, aquadest, cat gram A, cat gram B, cat gram C, cat gram D, NaCl, dan kertas lensa.

2. Prosedur kerja pemeriksaan

a. Sterilisasi alat

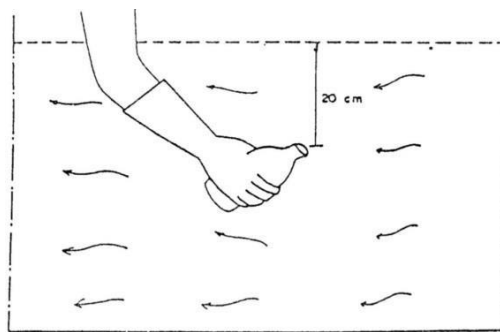
Alat-alat yang akan disterilkan harus dilindungi dengan cara menyumbat atau membungkus menggunakan kertas kopi kemudian diikat dengan tali, lalu dimasukan kedalam oven sterilisasi selama 30 menit dengan suhu 170°C. (Aminah, 2022).

b. Pembuatan media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA).

1. Ditimbang 32,8 gr media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) , lalu larutkan dalam 500 ml aquadest dengan cara diletakkan di atas *hot plate* sampai larutan bening.
2. Disiapkan 10 ml Aquadest.
3. Media dan Aquades disterilkan di *Autoclave* 121°C 1 atm selama 15 menit kemudian biarkan sampai suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$, lalu masukkan antibiotic Chloramphenicol ke dalam Aquades steril.
4. Setelah antibiotic Chloramphenicol dan aquades homogen tuang kedalam media yang sudah steril, homogenkan kemudian tuang ke cawan petri masing-masing 20 ml/petri.
5. Biarkan pada suhu kamar sampai beku.
6. Selanjutnya media disimpan di lemari es (Tim Bakteriologi, 2014, dalam penelitian Galuh, 2022).

c. Pengambilan sampel

1. Diambil sampel dari setiap air bak mandi yang terdapat di lingkungan santriwati Pondok Pesantren.
2. Disiapkan botol steril berkapasitas minimal 100 ml, yang telah disterilisasi pada suhu 120°C selama 15 menit.
3. Diambil sampel dengan memegang bagian bawah botol steril, lalu celupkan botol hingga sekitar 20 cm di bawah permukaan air, seperti pada gambar 3.1.
4. Dibakar bagian mulut botol untuk memastikan sterilisasi, tutup rapat botol, dan beri label sesuai sampel yang diambil. (SNI 06-2412-1991).
5. Dimasukkan botol sampel ke dalam kotak pendingin untuk menjaga kualitas sampel, kemudian bawa ke Laboratorium Parasitologi Teknologi Laboratorium Medik guna dilakukan pemeriksaan lebih lanjut.



Sumber: (SNI 06-2412-1991)

Gambar 3.1: Pengambilan sampel

d. Pemeriksaan secara makroskopis

1. Diambil sampel menggunakan cotton bud steril.
2. Diinokulasikan sampel secara merata pada permukaan media Sabouraud Dextrose Agar (SDA).
3. Ditutup kembali media SDA, lalu lem menggunakan selotip untuk mencegah kontaminasi.
4. Diinkubasi media pada suhu 37°C selama 48 jam hingga koloni tampak. (Farizal, 2017).

Pemeriksaan makroskopis juga dilakukan pada sampel *Candida albicans* dengan prosedur yang sama dan menggunakan media *Sabouroud Dextrose Agar*. Pemeriksaan ini bertujuan untuk menjadikan koloni *Candida albicans* sebagai kontrol positif dalam penelitian.

Interpretasi hasil makroskopis dapat dilihat pada gambar 3.2.

Koloni *Candida sp* tampak berwarna putih kekuningan dengan permukaan halus. Koloni memiliki tekstur licin, berbentuk cembung, dan mengeluarkan aroma khas seperti ragi.



Sumber: Medical Laboratori Technologist

Gambar 3.2 : Koloni *Candida sp* secara makroskopis.

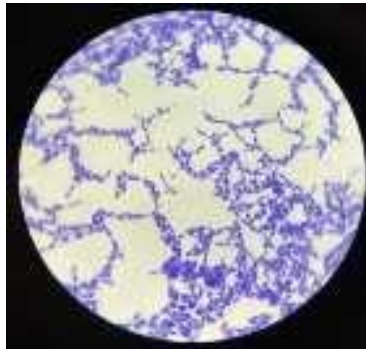
e. Pemeriksaan secara mikroskopis

1. Koloni yang tumbuh pada media SDA diambil menggunakan ose, kemudian ditempatkan ditengah objek kaca dan ditambahkan 1 tetes NaCl dan dipanaskan diatas bunsen agar merekat pada objek kaca, setelah itu dilakukan pengecatan Gram.
2. pewarnaan Gram yang terdiri dari menggenangi preparat dengan larutan cairan Gram A (kristal violet) selama 60 detik, membuang larutan kristal violet pada preparat dan membilas sisi ujung slide perlahan dengan air mengalir
3. menggenangi preparat dengan cairan Gram B (larutan lugol) selama 60 detik, membilas kembali preparat dengan air mengalir
4. mengalirkan cairan Gram C (alkohol 96%) pada preparat dari bagian ujung selama 5 detik, dengan membilas menggunakan air mengalir
5. menggenangi preparat dengan cairan Gram D (safranin) selama 60 detik, membilas safranin dari preparat menggunakan air mengalir
6. memiringkan kaca preparat untuk mengalirkan sisa air

7. Tahapan terakhir adalah pengamatan, yang dilakukan menggunakan mikroskop. Langkah langkahnya terdiri dari meletakkan preparat pada meja objek mikroskop, mengamati preparat menggunakan pembesaran 10x hingga pembesaran 1000x. (Widyasari & Azizah, 2024).

Interpretasi hasil mikroskopis dapat dilihat pada gambar 3.3.

Candida sp menunjukkan hasil dengan bentuk blastospora yang bulat atau lonjong, berwarna ungu, dan bersifat gram positif.



Sumber: Novimelya, 2021

Gambar 3.3: Hasil pemeriksaan secara mikroskopis.

F. Pengolahan dan Analisis Data

Hasil pemeriksaan identifikasi jamur *Candida sp* pada bak mandi, serta observasi mengenai kondisi air bak mandi, disajikan dalam bentuk tabel. Data yang berupa jumlah bak mandi yang terkontaminasi jamur *Candida sp* dan hasil observasi mengenai kondisi kamar mandi dianalisis secara univariat atau deskriptif dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

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

Keterangan:

N : Persentase sampel yang positif *Candida sp*

a : Jumlah sampel yang positif *Candida sp*

b : Jumlah seluruh sampel yang diperiksa. (Galuh, 2022)