

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah Observasional Analitik dengan pendekatan *Cross Sectional*. Ada dua variabel dalam penelitian ini, yaitu variabel bebas kualitas fisik (suhu, bau) dan kualitas kimia (pH, Sisa klor), sedangkan variabel terikat adalah jamur penyebab Infeksi oportunistik (*Candida albicans*, *Aspergillus sp*) di kolam renang Kota Bandar Lampung.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Pengambilan sampel air kolam renang di Kota Bandar Lampung dan penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasitologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Tanjungkarang pada bulan Mei 2025.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah air kolam renang yang tersedia untuk umum dan digunakan oleh masyarakat di Kota Bandar Lampung.

2. Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah 4 lokasi air kolam renang yaitu Kolam Renang UN, Kolam Renang LW, Kolam Renang AL, Kolam Renang PHM Waktu pengambilan sampel air pada pagi dan sore hari sehingga didapatkan 30 sampel.

3. Lokasi Pengambilan Sampel

- a. Kolam Renang UN : 4 Kolam Renang
- b. Kolam Renang LW : 3 Kolam Renang
- c. Kolam Renang AL : 5 Kolam Renang
- d. Kolam Renang PHM : 3 Kolam Renang

4. Teknik Sampling

Pada penelitian ini, diterapkan teknik pengambilan sampel *non-probability sampling* dengan pendekatan total sampling. Ini berarti bahwa seluruh populasi yang ada diambil sebagai sampel. Pengambilan sampel dilakukan pada semua kolam renang di Bandar Lampung yang memenuhi kriteria inklusi yang telah ditetapkan.

D. Variabel Dan Definisi Operasional

Tabel 3.1 Variabel Dan Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Kualitas Fisik (Suhu)	Tingkat panas atau dinginnya air kolam renang yang diukur pada saat pengambilan sampel yang dapat memengaruhi pertumbuhan mikroorganisme.	Pengukuran	Termometer	°C	Interval
Kualitas Fisik (Bau)	adanya bau tidak sedap yang bercampur klorin pada air kolam renang yang menunjukkan kemungkinan adanya kontaminasi organik atau mikroba.	Pengukuran	Waterbath dan Indera Pencium	Berbau dan Tidak Berbau	Nominal
Kualitas Kimia (pH)	Derajat keasaman atau kebasaan air kolam renang	Pengukuran	pH Universal Indicator	pH	Nominal
Kualitas Kimia (Sisa Klor)	Jumlah sisa klor yang masih tersisa di dalam air setelah proses desinfeksi. Yang berfungsi untuk membunuh mikroorganisme patogen seperti bakteri, virus, dan jamur.	Pengukuran	Tess kit	Mg/L	Nominal
Jamur <i>Candida albicans</i>	Jamur yang dapat menyebabkan infeksi pada individu dengan sistem kekebalan tubuh manusia yang lemah.	Makroskopis dan Mikroskopis	Media <i>Sabouraud Dextrose Agar</i> (SDA) dan Mikroskop	Ditemukan pertumbuhan jamur <i>Candida albicans</i> dan Tidak ditemukan pertumbuhan jamur <i>Candida albicans</i>	Nominal
Jamur <i>Aspergillus sp</i>	Jamur yang dapat menyebabkan infeksi pada individu dengan sistem kekebalan tubuh manusia yang lemah.	Makroskopis dan Mikroskopis	Media <i>Sabouraud Dextrose Agar</i> (SDA) dan Mikroskop	Ditemukan pertumbuhan jamur <i>Aspergillus sp</i> dan Tidak ditemukan pertumbuhan jamur <i>Aspergillus sp</i>	Nominal

E. Teknik Pengumpulan Data

Data yang dikumpulkan melalui langkah-langkah berikut:

1. Observasi

- a. Melakukan survei awal di lingkungan kolam renang Kota Bandar Lampung.
- b. Mengusulkan pembuatan surat izin penelitian dari jurusan Teknologi Laboratorium Medis kepada Direktur Poltekkes Kemenkes Tanjung Karang.
- c. Meminta surat izin penelitian di Kolam Renang.
- d. Mempersiapkan lembar observasi untuk mencatat kondisi kualitas fisik dan kimia air kolam renang.
- e. Pengambilan sampel pemeriksaan berupa air kolam renang.
- f. Membawa sampel air kolam renang ke laboratorium untuk di tanam pada media pertumbuhan jamur.
- g. Menyimpulkan hasil pemeriksaan.

2. Persiapan Alat dan Bahan

a. Alat

Dalam penelitian ini, kami menggunakan alat seperti: termometer, kit uji klorin, pH meter, dan botol steril. Selain itu, kami juga memanfaatkan beberapa peralatan pendukung lainnya, antara lain batang pengaduk, pinset, ose, pipet ukur, centrifuge, hot plate, neraca analitik, aluminium foil, pipet tetes, tabung reaksi, botol kaca untuk sampel, mikroskop, cover glass, cawan petri steril, inkubator, objek glass, Erlenmeyer steril, cool box, dan autoclave.

b. Bahan

Untuk keperluan penelitian ini, bahan yang digunakan meliputi Media Sabouraud Dextrose Agar (SDA), pewarna Gram A, pewarna Gram B, pewarna Gram C, pewarna Gram D, aquadest, chloramphenicol, germ tube, lactophenol cotton blue, dan minyak emersi.

3. Prosedur Kerja Pemeriksaan

a. Sterilisasi Alat

Sebelum digunakan, semua alat gelas yang diperlukan harus dicuci dan dikeringkan terlebih dahulu. Setelah itu, masing-masing alat dibungkus dengan kertas kopi. Proses sterilisasi dilakukan di dalam oven dengan suhu 160°C selama 40 menit (Soemarno, 2000).

b. Pembuatan Media Sabouraud Dextrose Agar (SDA)

Cara Kerja:

- 1) Ditimbang media SDA, kemudian larutkan dalam aquadest dan panaskan di atas hot plate hingga semua bahan larut sempurna.
- 2) Selanjutnya, sterilkan media SDA bersama dengan alat yang akan digunakan dengan menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah itu, tambahkan kloramfenikol dan homogenkan larutan tersebut.
- 3) Dituang media yang sudah steril ke cawan petri masing-masing 20 ml
- 4) Dibiarkan pada suhu kamar hingga beku (Indrasari et al., 2013).

c. Pemeriksaan Kualitas Fisik dan Kimia air Kolam Renang

Sebelum pengambilan sampel peneliti melakukan observasi terlebih dahulu terhadap kondisi air kolam renang dari pemeriksaan kualitas fisik yaitu pada Suhu dengan metode digital dan Bau dengan metode uji angka bau untuk pemeriksaan kimia yaitu pH, Sisa Klor menggunakan metode kolorimetri. Pencatatan di tulis pada lembar kertas sesuai dengan nilai angka yang di dapat.

1) Pemeriksaan Suhu

Prosedur Kerja:

- a) Siapkan terlebih dahulu termometer
- b) Kemudian, masukkan ujung termometer ke dalam air kolam hingga terendam seluruhnya.
- c) Tunggu beberapa saat hingga jarum termometer stabil dan membaca suhu air kolam.

2) Pemeriksaan Bau

Prosedur Kerja:

- a) Ukur benda uji sebanyak 200 mL, 50 mL, 12 mL, 2,8 mL dan masukkan masing-masing ke dalam erlenmeyer 500 mL
- b) Tambahkan air suling ke dalam erlenmeyer tersebut masing-masing sebanyak : 0 mL, 150 mL, 188 mL dan 197,2 mL sehingga total volume campuran menjadi 200 mL

- c) Tutup erlenmeyer dan masukkan ke dalam penangas air
- d) Masukkan juga erlenmeyer berisi 200 mL air suling atau air demineralisasi ke dalam penangas air tersebut sebagai pembanding
- e) Panaskan penangas air sampai mencapai suhu 60°C
- f) Setelah suhu air dalam penangas mencapai 60°C , angkat erlenmeyer tersebut dari penangas air
- g) Goyang-goyangkan erlenmeyer dan buka tutupnya serta cium baunya satu persatu, mulai dari yang paling encer dan diselangseling dengan air pengencer
- h) Apabila tercium bau, catat volume benda uji yang mulai dapat tercium baunya
- i) Apabila tidak tercium bau sama sekali, artinya contoh memang tidak berbau, catat hasilnya.
- j) Dilakukan uji penentuan dengan mengulangi langkah tadi pada pengenceran sesuai ketentuan tabel angka bau dan catat pada pengenceran berapa bau mulai tercium (SNI 06-6860-2002).

3) Pemeriksaan Sisa Klor dan pH

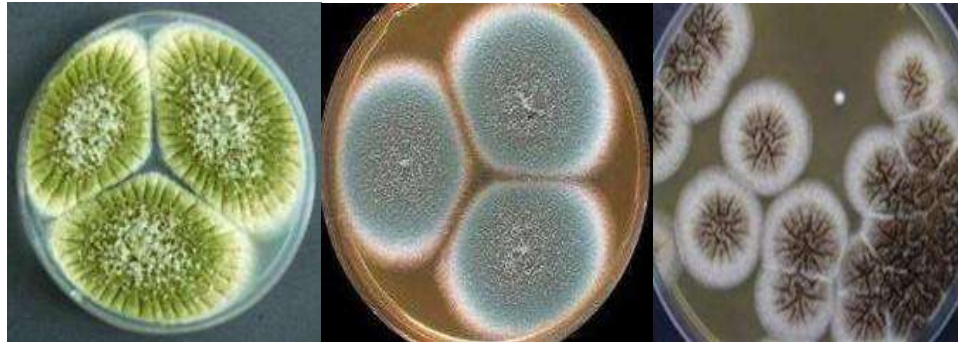
Prosedur kerja :

- a) Buka penutup tabung indikator kemudian ambil air kolam renang dengan mencelupkan test kit.
 - b) Lalu kurangi air sampai batas pada test kit.
 - c) Masukkan cairan test klorin dan cairan pH sebanyak lima tetes ke masing-masing tabung lalu tutup tabung indikator.
 - d) Kemudian homogenkan tabung tersebut. Untuk memastikannya, dapat melihat perubahan warna yang terjadi pada tabung tersebut.
 - e) Nilai sisa klor terikat 3 mg/l, jika kurang dari batas normal maka perlu menambahkan kaporit pada kolam renang (Nugroho Galih, 2024).
- d. Pengambilan sampel air kolam renang
- Sampel di ambil saat kolam terisi air dan sedang digunakan, bukan pada saat perawatan. Langkah-langkahnya adalah sebagai berikut:
- 1) Disiapkan botol kaca yang telah disterilkan menggunakan oven untuk pengambilan sampel.

- 2) Dibuka kemasan kertas, dan pegang bagian bawah botol yang masih terbalut kertas agar tangan tidak langsung bersentuhan dengan botol.
 - 3) Lepaskan tali pengikat dan turunkan botol secara perlahan hingga mulut botol terendam di dalam air.
 - 4) Angkat botol setelah terisi penuh, buang sebagian air, kemudian tutup rapat botol tersebut.
 - 5) Dibakar bagian mulut botol, kemudian botol ditutup kembali
 - 6) Berikan label dengan mencantumkan kode nama sampel, tanggal pemeriksaan, dan waktu pengambilan sampel. Selanjutnya, sampel dimasukkan ke dalam kotak es penyimpanan dan dibawa ke laboratorium Parasitologi Poltekkes Kemenkes Tanjung Karang untuk dilakukan pemeriksaan. (Virgianti et al.,2015).
- e. Penanaman Sampel Pada Media Sabouraud Dextrose Agar (SDA)
- 1) Dipipet sampel air kolam renang dari botol ke dalam tabung reaksi.
 - 2) Disentrifus sampel air kolam renang terlebih dahulu selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm.
 - 3) Dibuang supernatan, kocok endapan, lalu tanam ke dalam media SDA menggunakan ose
 - 4) Dipanaskan pinggir plate media dengan bunsen dan tutup kembali.
 - 5) Inkubasi pada suhu 30°C selama 3-7 hari lalu amati perubahan nya (Virgianti, 2015).
- f. Pemeriksaan Makroskopis Jamur

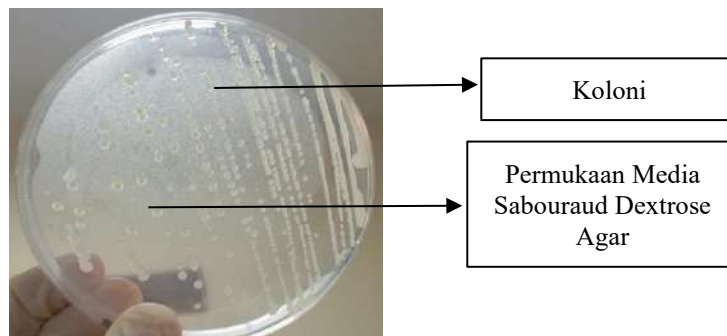
Pemeriksaan makroskopis merupakan pengamatan langsung yang dilakukan untuk mengetahui pertumbuhan koloni jamur serta tampilan permukaan koloni yang tumbuh pada media Sabouraud Dextrose Agar (SDA) menunjukkan karakteristik yang khas. Koloni jamur *Candida*, misalnya, memiliki ciri-ciri seperti warna putih kekuningan, permukaan yang halus, cembung, dan tampak licin. Sedangkan jamur *Aspergillus sp* memiliki ciri-ciri koloni berserat, dan ukuran nya besar. Dengan warna yang bervariasi sesuai jenis spesies nya seperti warna hijau, abu-abu, coklat dan putih kehitaman.

Interpretasi Hasil:



Sumber: Refai et al., 2014

Gambar 3.2 Koloni *Aspergillus sp*



Sumber: Dewi et al., 2024

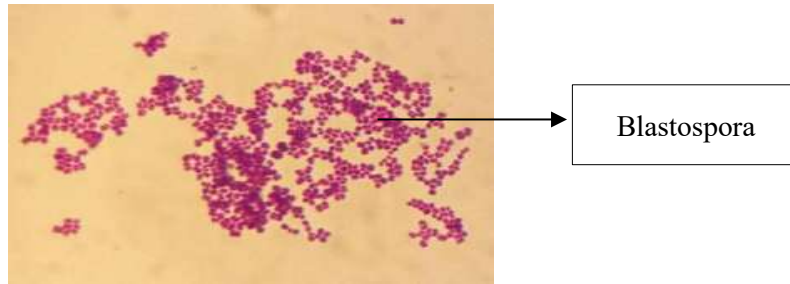
Gambar 3.1 Koloni *Candida albicans*

g. Pemeriksaan Mikroskopis *Candida albicans*

Pemeriksaan mikroskopis dilakukan dengan cara pengamatan di alat mikroskop untuk mengetahui bentuk jamur. Pada jamur *Candida albicans* ditemukan bentuk seperti blastospora. Dilakukan dengan cara sebagai berikut:

- 1) Ambil koloni dari media SDA menggunakan ose steril, kemudian letakkan koloni tersebut di tengah objek gelas. Lakukan preparasi dan lanjutkan dengan pencatatan menggunakan metode Gram.
- 2) Teteskan satu tetes larutan Gram A ke atas objek gelas, biarkan selama satu menit, lalu bilas dengan air yang mengalir.
- 3) Teteskan satu tetes larutan Gram B pada objek gelas, biarkan selama satu menit, lalu bilas kembali dengan air mengalir.

- 4) Teteskan satu tetes larutan Gram C pada objek gelas, tunggu selama 30 detik, lalu bilas dengan air mengalir.
- 5) Teteskan satu tetes larutan Gram D pada objek gelas, biarkan selama 30 detik, lalu bilas dengan air mengalir.
- 6) Dikeringkan preparat tersebut dan lakukan pengamatan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000 x (Soemarno,2000).



Sumber: Dewi et al.,2024

Gambar 3.3 Pengecatan Gram *Candida sp*

h. Tes Lanjutan Sub Kultural *Candida albicans*

Pada jamur *Candida* dilakukan tes sub kultural menggunakan germ tube untuk membedakan *Candida albicans* dengan spesies lainnya, dengan ciri-ciri adanya sel ragi berkecambah yang hanya ada pada *Candida albicans*. Cara kerja lanjutan sub kultural dengan germ tube dengan cara :

- 1) Disiapkan tabung reaksi yang diisi oleh serum/putih telur masukan ke dalam inkubator suhu 37°C selama 2 jam
- 2) Media Germ Tube di keluarkan dan siap di gunakan
- 3) Dipanaskan bagian mulut tabung dengan api bunsen sebelum dan sesudah penanaman
- 4) Ambil sampel dari koloni pada media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) menggunakan ose, kemudian masukkan ke dalam media *Germ Tube Test*, aduk sampai homogen, lalu inkubasi pada suhu 37°C selama 2-3 jam
- 5) Dikeluarkan media *Germ Tube Test* dari incubator, dan amati dibawah mikroskop perbesaran 40 x 10 (Mutiawati, 2016).

Interpretasi Hasil:



Sumber : Yuris, 2024

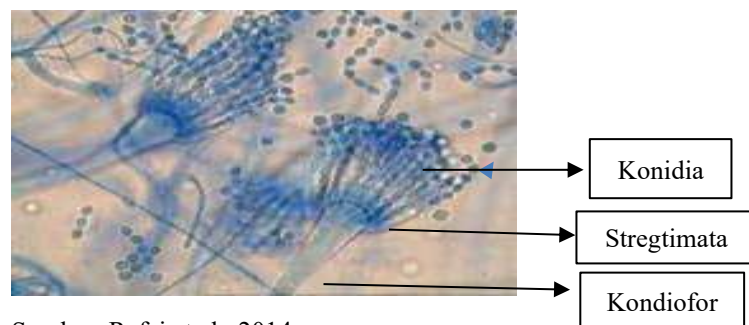
Gambar 3.4 Hasil uji Germ Tube *Candida albicans*

i. Pemeriksaan Mikroskopis Jamur *Aspergillus sp*

- 1) Disiapkan alat dan bahan
- 2) Potong atau ambil koloni jamur menggunakan pinset lalu tempatkan di objek glass.
- 2) Teteskan koloni jamur tersebut dengan pewarna *Lactophenol Cotton Blue*.
- 3) Tutup dengan kaca penutup, hindari terbentuknya gelembung udara.
- 4) Amati dibawah mikroskop perbesaran 40x (Tim Bakteriologi, 2014)

Interpretasi Hasil:

Hasil mikroskopis *Aspergillus sp* yang dilihat dengan menggunakan alat mikroskop. *Aspergillus* memiliki konidiophore yang terdiri dari sel kaki, stregtimata dan untainan konidia ini tidak bercabang (Yani et al., 2020).



Sumber: Refai et al., 2014

Gambar 3.5 Mikroskopis *Aspergillus sp*

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan Data

Menurut Data yang diperoleh dalam penelitian ini kemudian diolah dan dianalisis menggunakan komputer, sehingga menghasilkan informasi yang akurat pada tahap:

a. Editing

Sebelum data diolah, tahap editing diperlukan. Data atau keterangan yang telah dikumpulkan dalam buku catatan harus dibaca kembali. Jika ditemukan kesalahan atau hal yang meragukan, data tersebut perlu diperbaiki.

b. Coding

Tahap coding merupakan proses mengubah data yang berbentuk kalimat atau huruf menjadi data dalam bentuk angka (Notoatmodjo, 2018).

c. Cleaning

Setelah mengumpulkan semua data dari berbagai sumber, langkah berikutnya adalah melakukan verifikasi untuk memastikan tidak ada kesalahan dalam kode, ketidak lengkapan, atau masalah lainnya. Selanjutnya, perbaikan akan dilakukan. (Notoatmodjo, 2018).

d. Entry

Tahap ini melibatkan pengisian jawaban dari responden ke dalam sistem dengan menggunakan "kode" (angka atau huruf) yang dimasukkan ke dalam program atau perangkat lunak komputer. (Notoatmodjo, 2018).

e. Tabulating

Data kemudian dimasukkan ke dalam tabel-tabel dan diorganisir sedemikian rupa sehingga memungkinkan untuk dihitung jumlah kasus dalam berbagai kategori

2. Analisis Data

Analisis data yang digunakan adalah sebagai berikut:

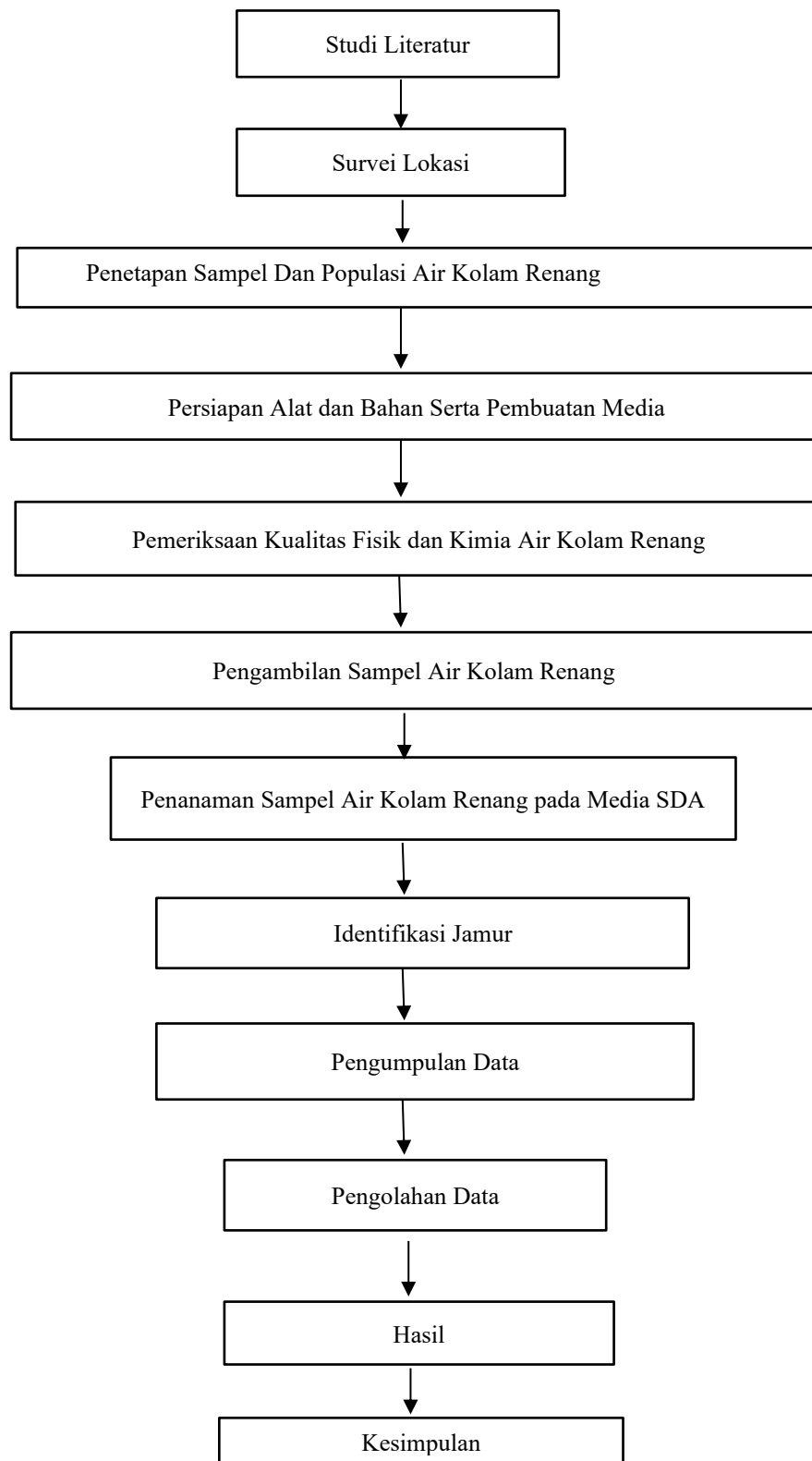
a. Univariat

Analisa univariat digunakan untuk menjelaskan karakteristik setiap variabel penelitian. Pada masing-masing variabel seperti nilai mean, median, maksimum dan minimum residu diukur untuk memberikan konteks awal sebelum melanjutkan ke analisis yang lebih kompleks.

b. Bivariat

Analisa bivariat dilakukan dengan uji korelasi biserial dan uji Chi Square (χ^2) untuk mengetahui hubungan yang signifikan antara masing-masing variabel bebas dengan variabel terikat. Dasar pengambilan hipotesis penelitian berdasarkan pada tingkat signifikan dengan derajat kepercayaan ($\alpha < 0.05$), hubungan dikatakan bermakna apabila nilai $p < 0,05$.

G. Alur Penelitian



Gambar 3.6 Alur Penelitian

H. *Ethical Clearance*

Ethical Clearance yang di terapkan dalam penelitian ini tidak melibatkan manusia sebagai subjek penelitian, namun tetap mematuhi aspek etika. Nomor Layak Etik pada penelitian ini adalah No.298/KEPK-TJK/V/2025, Penelitian yang di lakukan dengan izin dari komite etik ini tidak menimbulkan risiko bagi lingkungan. Segala jenis limbah dari penelitian ini, termasuk limbah sampel air kolam renang, limbah B3, limbah larutan dan limbah lainnya, di kumpulkan dan di eliminasi dengan prosedur penanganan limbah yang sesuai. Limbah dari medium cawan petri dan limbah dari pertumbuhan jamur dari medium di hancurkan melalui perebusan. Sisa sampel air kolam renang di buang ke wastafel, sementara cawan petri di rebus kembali dan di cuci dengan penambahan sabun dalam air mengalir.