

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian deskriptif yang bertujuan menggambarkan ada tidaknya jamur yang terdapat pada tempat wudhu di terminal wilayah Surabaya.

3.2 Populasi dan Sampel Penelitian

3.2.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini adalah 11 (sebelas) terminal di Surabaya.

3.2.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah udara pada setiap terminal yang memiliki fasilitas tempat wudhu sebanyak 8 (delapan) terminal diambil pada 1 (satu) titik dalam waktu 1 (satu) hari penuh yaitu saat pagi, siang, sore, dan malam. Jadi jumlah sampel udara yang diambil sebanyak 32 sampel udara.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.3.1 Lokasi Penelitian

- a. Lokasi pengambilan sampel dilakukan di tempat wudhu pada 8 (delapan) terminal di Surabaya, yaitu Terminal Dukuh Kupang, Terminal Osowilangun, Terminal Keputih, Terminal Bratang, Terminal Balong Sari, Terminal Manukan, Terminal Menanggal, dan Terminal Kalimas Barat.

- b. Lokasi pemeriksaan jamur dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Prodi D3 Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya.

3.3.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Februari sampai Juli 2013.

3.3.3 Waktu Pemeriksaan

Waktu pemeriksaan dilaksanakan pada bulan April 2013.

3.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional Variabel

3.4.1 Variabel Penelitian

Jamur yang terdapat pada tempat wudhu di terminal wilayah Surabaya.

3.4.2 Definisi Operasional Variabel

Jamur dalam penelitian ini ditentukan secara mikroskopis berdasarkan bentuk badan buah atau hifa dengan mengembangbiakan jamur pada media *Saboroud Dextrose Agar* (SDA) dan menggunakan bantuan buku petunjuk praktikum sebagai pembanding hasil pemeriksaan.

3.5 Metode Pengumpulan Data

Pemeriksaan jamur ditentukan menggunakan uji laboratorium dengan metode pembiakan pada media *Saboroud Dextrose Agar* (SDA). Data yang terkumpul akan dikategorikan menjadi :

Positif, (+) : Terkontaminasi jamur apabila hasil laboratorium ditemukan minimal 1 (satu) spesies jamur.

Negatif, (-) : Tidak terkontaminasi jamur apabila hasil laboratorium tidak ditemukan spesies jamur.

3.5.1 Persiapan Sampel Uji atau Sampel Pemeriksaan (Udara)

a. Alat yang digunakan :

1. Pengambilan sampel udara adalah dengan cara dikembangbiakan pada media *Saboroud Dextrose Agar* (SDA).
2. Pembuatan media adalah neraca triple beam, gelas arloji, spatula, gelas ukur, beaker glass, erlen meyer, petri disk, kaki 3, meja kasa, bunsen, pipet volume, pipet pastur, kertas pH, tutup kapas kasa, koran, tali wol, autoklaf, dan koran.

b. Bahan yang digunakan

1. Bahan uji adalah udara.
2. Bahan pembuatan media adalah media *Saboroud Dextrose Agar* (SDA), Chloraphenicol, PZ, dan aquadest.

c. Prosedur pembuatan media *Saboroud Dextrose Agar* (SDA) (Petunjuk Pembuatan Media Dan Reagensia, 1993) :

1. Menimbang sebanyak 39 gram media *Saboroud Dextrose Agar* (SDA).

Kemudian mencampurkan media SDA ke dalam 420 ml aquadest.

Perhitungan media SDA (*Saboroud Dextrose Agar*) :

$$65 \text{ gr}/1000 \text{ ml} \times 600 \text{ ml} = 39 \text{ gr}$$

Keterangan :

65 gr/1000 ml = komposisi media SDA pada etiket reagen

595 ml dibulatkan menjadi 600 ml = dari 17 ml x 35 plate

2. Melarutkan media SDA sampai larut sempurna. Kemudian ukur pH media antara 5,5 -7,8.
3. Membungkus larutan media SDA, 35 plate, pipet volume 10 ml 1 buah, dan erlen meyer kosong dengan koran atau kertas yang tidak terpakai.
4. Sterilisasi larutan media SDA dan alat yang akan digunakan ke dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C.
5. Setelah larutan media SDA dan alat di sterilisasi, membuat larutan Chloraphenicol yaitu 250 mg Chloraphenicol ditambahkan 10 ml PZ secara steril dan dihomogenkan.
6. Mengambil 1,2 ml larutan Chloraphenicol dan tuangkan ke dalam larutan media SDA, kemudian dihomogenkan.

Perhitungan pengambilan larutan Chloraphenicol :

$$2 \text{ ml}/1000 \text{ ml} \times 600 \text{ ml} = 1,2 \text{ ml}$$

Keterangan :

2ml/1000 ml = ketetapan

600 ml = 17 ml x 35 plate

7. Menuang campuran larutan media SDA dan larutan Chloraphenicol ke dalam petri dish secara steril (1 plate = 17 ml campuran larutan).
- d. Prosedur pengambilan sampel udara (Rachmawan, 2001) :
1. Memilih lokasi titik sampel yang akan diambil.
 2. Meletakkan petri dish yang berisi media *Saboroud Dextrose Agar* (SDA) pada setiap tempat wudhu di terminal daerah Surabaya.
 3. Membuka tutup petri dish yang berisi media SDA dengan posisi membuka plate kurang lebih 30°.
 4. Membiarkan petri dish yang berisi media SDA terbuka selama 1 jam lebih 30 menit.
 5. Menutup petri dish yang berisi media SDA dan memberi label pada plate. Kemudian inkubasi pada suhu 37° C selama 2 hari atau 48 jam.
 6. Membawa petri dish ke laboratorium untuk diperiksa.

3.5.2 Pemeriksaan dan Penentuan Jamur

- a. Alat yang digunakan :
Skapel, pinset, pengait, pipet pastur, api spirtus, obyek glass, cover glass, dan mikroskop binokuler.
- b. Bahan yang digunakan : udara
- c. Media yang digunakan : *Saboroud Dextrose Agar* (SDA)
- d. Reagen yang digunakan : Lactophenol Blue (LCB)

e. Prinsip pemeriksaan :

Udara dibiarkan masuk ke dalam media *Saboroud Dextrose Agar* (SDA) untuk memeriksa ada tidaknya jamur yang tumbuh. Untuk mengetahui jenis jamur dilanjutkan melihat jamur dibawah mikroskop dengan perbesaran lensa obyektif 10X kemudian diputar ke perbesaran lensa obyektif 40X.

f. Prosedur pemeriksaan spesies jamur :

1. Menyiapkan media *Saboroud Dextrose Agar* (SDA).
2. Membiarkan media SDA terbuka pada tempat wudhu selama 1 jam lebih 30 menit. Kemudian inkubasi pada suhu 37°C selama 2 hari atau 48 jam.
3. Media SDA yang diketahui terdapat pertumbuhan jamur dilakukan identifikasi.
4. Letakkan 1 tetes Lactofenol Blue (LCB) di tengah obyek glass yang bersih, kering, dan tidak berlemak.
5. Mengambil sedikit uraian kapas pada jamur dengan skapel secara steril, kemudian letakkan uraian kapas pada jamur di atas tetesan LCB pada obyek glass.
6. Meratakan uraian kapas pada jamur diatas tetesan LCB pada obyek glass dengan pengait secara steril.
7. Meletakkan cover glass diatas permukaan tetesan LCB secara hati-hati
8. Obyek glass dipanaskan diatas api bunsen (agar spora jamur mati) dengan bantuan pinset sampai terjadi sedikit gelembung pada tetesan LCB.
9. Memeriksa preparat dibawah mikroskop dengan perbesaran lensa obyektif 10X. Kemudian diputar ke perbesaran lensa obyektif 40X.

3.1 Tabulasi Data

Data hasil pengujian laboratorium ditabulasikan ke dalam tabel yang tersaji seperti berikut ini :

Tabel 3.1 Hasil Identifikasi Keberadaan Jamur Pada Tempat Wudhu di Terminal Daerah Surabaya

Nama Terminal	P1	P2	P3	P4
T. Manukan				
T. Balongsari				
T. Dukuh Kupang				
T. Osowilangun				
T. Bratang				
T. Menanggal				
T. Keputih				
T. Kalimas				
Jumlah (+)				
Jumlah (-)				

Keterangan :

P1 : waktu pengambilan sampel pada pagi hari

P2 : waktu pengambilan sampel pada siang hari

P3 : waktu pengambilan sampel pada sore hari

P4 : waktu pengambilan sampel pada malam hari

Positif, (+) : terkontaminasi jamur

Negatif, (-) : tidak terkontaminasi jamur

3.6 Metode Analisis Data

Metode analisis data yang dipergunakan adalah secara deskriptif yaitu :

- a. Menghitung persentase setiap jamur pada tempat wudhu.
- b. Menghitung jamur yang sering muncul (nilai modus).