

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian deskriptif. Jenis penelitian ini disesuaikan dengan kondisi penelitian yang dilakukan dalam keadaan alamiah. Metode penelitian yang digunakan adalah metode penelitian deskriptif *ex post facto*. Penelitian ini akan mendeskripsikan keadaan kandungan *Candida* spp. pada air bak toilet dan sanitasi toilet SMA Muhammadiyah di kota Surabaya.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 6 bulan, yaitu dari bulan Desember 2014 sampai dengan bulan Mei 2015 yang mana di dalamnya termasuk persiapan dan pengolahan data. Penelitian sampel air bak toilet dilakukan pemeriksaan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Kota Surabaya.

3.3 Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah semua air bak toilet pada 7 SMA Muhammadiyah yang ada di Kota Surabaya. Sampel dalam penelitian diambil dari 4 SMA Muhammadiyah, dengan 3 kali ulangan disetiap sekolah, sehingga jumlah keseluruhan sampel berjumlah 12 sampel. Teknik sampling yang digunakan adalah *purposive sampling* dengan kriteria sampel air bak toilet yang khusus digunakan oleh siswi dan yang paling kotor.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini adalah kandungan *Candida* spp. pada air bak toilet dan sanitasi toilet SMA Muhammadiyah di kota Surabaya.

3.5 Definisi Operasional Variabel

- (1) Kandungan *Candida* spp adalah keberadaan berbagai macam spesies dari *Candida* berdasarkan hasil identifikasi secara morfologi dan fisiologi, dengan cara menghitung persentase dari jumlah sampel positif *Candida* spp di bagikan dengan jumlah sampel keseluruhan *Candida* spp.
- (2) Kriteria morfologi koloni *Candida* spp pada medium SDA adalah berbentuk bulat, dengan permukaan sedikit cembung, halus, licin dan sedikit berlipat, dan berukuran $(3,5-6) \times (6-10) \mu\text{m}$.
- (3) Kriteria fisiologi *Candida* spp dilihat dari hasil fermentasi yang ditandai dengan perubahan warna menjadi kuning pada larutan gula (glucose, lactose, sucrose, maltose, galaktose, trehalose) dan hasil hidrolisis urea dengan perubahan warna menjadi merah muda.
- (4) Perubahan warna (fermentasi) pada larutan gula tertentu dan atau pada hidrolisis urea akan menentukan spesies *Candida* yang terisolasi didalamnya (mengacu pada buku *Description of Medical Fungi, University of Adelaide*)
- (5) Sanitasi toilet adalah kondisi toilet yang ditentukan dari : a) standar minimal fasilitas bangunan toilet (fisik bangunan dan perbandingan jumlah toilet dengan pengguna), b) kebersihan toilet, dan c) perawatan toilet.

3.6 Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data

Adapun teknik dan instrumen yang digunakan peneliti dalam pengumpulan data adalah :

3.6.1 Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data dilakukan dengan tiga cara yaitu : dengan melakukan observasi langsung sanitasi toilet, uji laboratorium dan wawancara dengan pengelola toilet.

3.6.1.1 Metode uji laboratorium

Uji laboratorium digunakan untuk memperoleh data ada tidaknya kandungan *Candida* spp. pada air bak toilet SMA Muhammadiyah di kota Surabaya.

3.6.1.2 Metode Observasi

Metode observasi digunakan untuk memperoleh data mengenai sanitasi toilet SMA Muhammadiyah di kota Surabaya.

3.6.1.3 Metode Angket

Metode angket digunakan untuk memperoleh beberapa jawaban dari pengelola toilet mengenai data cara perawatan/pengelolaan toilet SMA Muhammadiyah di kota Surabaya.

3.6.2 Instrumen Pengumpulan Data

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini dibuat dalam bentuk tabel :

3.6.2.1 Tabel Pemeriksaan Laboratorium

Tabel pemeriksaan laboratorium memuat data mengenai kandungan *Candida* spp, mulai dari kode sample, uji identifikasi, gambaran mikroskopis, dan kesimpulan spesies *Candida* spp.

3.6.2.2 Tabel observasi

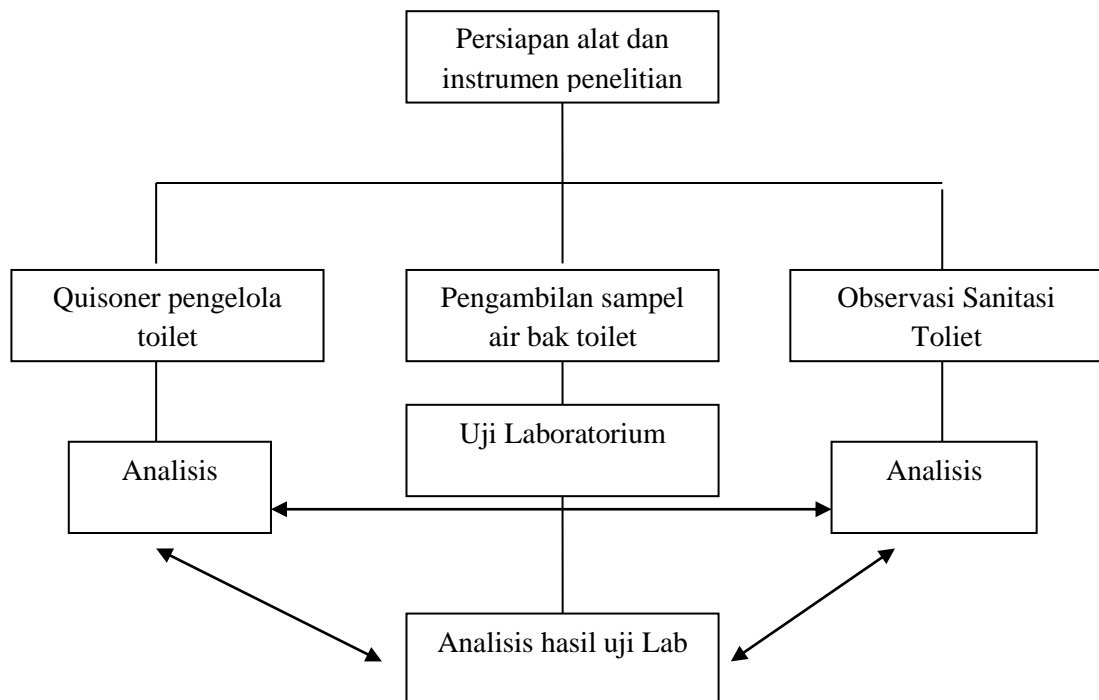
Tabel observasi memuat data tentang fasilitas, ukuran, kondisi bangunan, kebersihan toilet, dan kebersihan air yang digunakan.

3.6.3.3 Tabel Hasil Angket pengelola toilet sekolah

Tabel hasil angket memuat data yang berkaitan dengan cara pengelolaan dan membersihkan toilet, data yang ada pada tabel ini adalah kode sampel, rasio toilet dengan jumlah pengguna, frekuensi pembersihan bak toilet/minggu, teknik/cara membersihkan, dan penggunaan disinfektan.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Alur Penelitian



3.7.2 Alat penelitian

Alat yang digunakan meliputi *autoklaf*, oven, spuit 10 ml, botol sampel, inkubator, cawan petri, ose, mikroskop, pipet ukur, tabung reaksi, oven, mikroskop, kaca benda dan penutup, botol semprot, *Sentrifuge*, dan lampu spiritus.

3.7.3 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk pemeriksaan jamur *Candida* spp. yaitu *Sabouraud Dextrosa* Agar, kloramfenikol, Gentamisin, bahan media gula-gula (*Glucose, Laktose, Sukrose, Maltose, Galaktose dan Trehalose*), bahan pewarnaan Gram, larutan NaCl 0,9%, minyak imersi, aquadest dan sampel air bak toilet SMA Muhammadiyah di kota Surabaya.

3.7.4 Cara Kerja Uji Laboratorium

3.7.4.1 Persiapan, inokulasi, dan uji identifikasi sampel

- (1) Persiapan alat dan bahan
- (2) Mensterilisasi alat dan bahan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
- (3) Memasukkan air sampel ke dalam botol *sentrifuge* (dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit).
- (4) Menggoreskan sampel air ke dalam agar miring.
- (5) Menginkubasi agar miring yang sudah di inokulasi selama 3 hari (suhu 25-30°C).
- (6) Setelah 3 hari, melakukan pemurnian lalu menginkubasi selama 1 hari.
- (7) Setelah 1 hari, hasil pemurnian di tanam pada *slide culture* juga;
- (8) Setelah 1 hari, hasil pemurnian di tanam pada cairan Urea dan gula-gula (*Glucose, Laktose, Sukrose, Maltose, Galaktose dan Trehalose*).
- (9) Setelah 2 hari, mengamati hasil slide culture di bawah mikroskop untuk mengamati morfolgi/gambaran mikroskopis jamur.
- (10) Setelah 2 hari, mengamati hasil hidrolisis urea dan fermentasi dengan melihat perubahan warna yang terjadi.

(11) Menentukan spesies jamur berdasarkan hasil 9 dan 10.

3.7.4.2 Identifikasi spesies *Candida* melalui pengamatan mikroskopis

- (1) Memindahkan koloni yang tumbuh pada media slide culture ke objek glass lalu mengamatinya dibawah mikroskop binokuler.
- (2) Mengamati morfologi dari sediaan, seperti bentuk sel, ada tidaknya tunas, ada tidaknya pseudohyphae serta bentuknya, dan ada tidaknya blastoconidia beserta bentuknya.

3.7.4.3 Identifikasi spesies *Candida* melalui uji fisiologis

- (1) Memindahkan hasil inokulum yang sudah dimurnikan ke media larutan gula (*Glucose, Laktose, Sukrose, Maltose, Galaktose dan Trehalose*) dan larutan urea.
- (2) Mengamati perubahan warna setelah 48 jam.
- (3) Berikut beberapa contoh hasil uji fisiologis spesies *Candida* (mengacu pada buku *Description of Medical Fungi, University of Adelaide*):

Tabel 3.1 Uji Fisiologi beberapa jenis *Candida*

No	Spesies <i>Candida</i>	Fermentasi pada larutan gula ¹						Hidrolisis urea ²
		<i>Glu</i>	<i>Lak</i>	<i>Suk</i>	<i>Mal</i>	<i>Gal</i>	<i>Tre</i>	
1	<i>Candida albicans</i>	+	-	-(s)	+	V	v	-
2	<i>Candida glabrata</i>	+	-	-	-	-	v	-
3	<i>Candida krusei</i>	+	-	-	-	-	-	v
4	<i>Candida parapsilosis</i>	+	-	-,s	-,s	V	-,s	-
5	<i>Candida tropicalis</i>	+	-	v	+	+	+,s	-

Keterangan :

1 = Warna awal larutan gula (biru tua)

2 = Warna awal urea (putih)

+ = positif (warna kuning)

- = negative (tidak ada perubahan warna)

v = Variable (warna biru muda)

s = Slow (respon perubahan warna sangat lambat)

3.8 Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh akan dianalisis secara deskriptif.

3.8.1 Data Hasil Uji Laboratorium

Data hasil uji laboratorium dianalisis secara deskriptif dengan menggunakan persentase (Azwar, 2005) dalam Amin Prahatamaputra (2011) dengan rumus :

$$\% \text{ Candida spp} = \frac{\Sigma (\text{positif}) \text{ Candida spp}}{\Sigma (\text{positif dan negative}) \text{ Candida spp}} \times 100\%$$

3.8.2 Data Hasil Observasi

Data hasil observasi dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan standar minimal fasilitas toilet (berdasarkan standard toilet umum indonesia) dengan fasilitas yang dimiliki oleh sekolah.

3.8.3 Data Hasil Angket

Data hasil angket akan dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan cara pengelolaan dan membersihkan toilet (berdasarkan standard toilet umum Indonesia) dan cara pengelolaan dan membersihkan yang diterapkan di sekolah.