

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah deskriptif kualitatif, untuk mengetahui kapang kontaminan yang terdapat pada Air Gentong yang diminum di Wisata Religi Daerah Surabaya.

3.2. Populasi dan Sampel

3.2.1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh air gentong dengan sejumlah 11 gentong di wisata religi daerah Surabaya.

3.2.2. Sampel

Sampel yang digunakan peneliti adalah air gentong yang diminum di Wisata Religi Daerah Surabaya kemudian melalui tahap pengenceran 10^{-1} s/d 10^{-3} dengan replikasi 3 kali lalu ditanam pada media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) dengan jumlah 33 sampel.

3.2.3. Teknik Sampling

Pada penelitian ini, metode Toyal Sampling digunakan, yang berarti jumlah sampel sama dengan populasi.

3.3. Lokasi dan Waktu Penelitian

3.3.1. Lokasi Penelitian

Lokasi penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi D3 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya.

3.3.2. Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Desember – Juli 2023 dan waktu pemeriksaan dilakukan pada bulan Mei 2023.

3.4. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional Variabel

3.4.1. Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini yaitu keberadaan kapang kontaminan pada air gentong.

3.4.2. Definisi Operasional Variabel

Kapang kontaminan adalah mikroorganisme yang akan dicari keberadaannya melalui observasi dan uji laboratorium pada air gentong di media SDA dengan kriteria :

(+) Positif : Apabila ditemukan koloni kapang saat ditumbuhkan pada media Sabouraud Dextrose Agar (SDA) dan ditemukannya filamen berupa hifa serta bentuknya secara mikroskopis.

(-) Negatif : Apabila tidak ditemukan koloni kapang saat ditumbuhkan pada media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) dan tidak ditemukannya filamen berupa hifa serta bentuknya secara mikroskopis.

3.5. Teknik Pengumpulan Data

Teknik Pengumpulan data dilakukan dengan uji laboratorium kapang kontaminan pada air gentong yang melalui tahap pengenceran 10^{-1} s/d 10^{-3} lalu ditanam pada media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) kemudian di amati pertumbuhan kapang kontaminan yang tumbuh dalam media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) , untuk memperjelas ketika pengamatan secara mikroskopis dilakukan penanaman lebih lanjut di media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) dengan metode slide kultur.

3.5.1. Alat dan Bahan

A. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antar lain : cawan Petri, Tabung reaksi, S spuit, Rak tabung, Pipet *pasteur*, Erlenmeyer, *Neraca Triple Beam*, Batang pengaduk, Kertas pH, Batang V, Kertas saring, *Objek glass*, *Cover glass*, Pinset, *Scalpel*, Autoklaf, Mikroskop, Bunsen, Jarum ose / ose bulat.

B. Bahan dan Media

Media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), Air Gentong, Larutan NaCl, Kloramphenicol, Aquadest steril, *Lacto Phenol Cotton Blue* (LPCB).

3.5.2. Prosedur Penelitian

A. Pengambilan Sampel

Sampel diambil dari gentong kemudian dimasukkan dalam botol coklat steril dan dimasukkan dalam *box ice cool*.

B. Pengenceran Sampel

Pengenceran dilakukan dengan seri pengenceran dari 10^{-1} sampai 10^{-3} , Perbandingan yang digunakan yaitu 1: 9.

1. Menyiapkan alat dan bahan (steril).
2. Menyiapkan 1 Erlenmeyer dan 2 tabung reaksi (3 pengenceran), Larutan NaCl dan air sampel.
3. Menuangkan 90 ml larutan NaCl pada 1 Erlenmeyer dan 9 ml masing-masing tabung reaksi.
4. Menuangkan 10 ml sampel air pada Erlenmeyer 10^{-1} yang sudah berisi 90 ml larutan NaCl kemudian dihomogenkan.
5. Mengambil 1 ml air pada Erlenmeyer 10^{-1} kemudian menuangkannya pada tabung reaksi 10^{-2} kemudian dihomogenkan.
6. Mengambil 1 ml air pada tabung reaksi 10^{-2} kemudian menuangkannya pada tabung reaksi 10^{-3} kemudian dihomogenkan.
7. Begitu seterusnya untuk pengenceran pada sampel 2 sampai 33 (Ariani et.al, 2018)

C. Prosedur Pembuatan Media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA)

Berdasarkan prosedur pembuatan media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) menurut (Az-zuhra, 2022), yaitu :

1. Menyiapkan semua alat dan bahan yang digunakan.
2. Melakukan perhitungan SDA, kemudian dilakukan perhitungan dan penimbangan media SDA

SDA : @ 20 ml, 105 plate

SDA : $\frac{65 \text{ gram}}{1000} \times 2100 \text{ ml aquadest} = 136,5 \text{ gr SDA}$

3. Menimbang SDA menggunakan *Neraca Triple Beam* sesuai dengan hasil perhitungan. Langkah pertama menimbang gelas arloji kosong (GAK) dan menambahkan media SDA sesuai jumlah yang dibutuhkan.
4. Memasukkan media SDA kedalam Erlenmeyer yang berisi 1200 ml aquadest.
5. Melarutkan media SDA menggunakan api bunsen sampai mendidih sambil dihomogenkan.
6. Mengukur media SDA dengan kertas pH sampai pada pH 5,6
7. Menutup Erlenmeyer dengan bulatan kapas dan kasa, bungkus dengan koran sterilkan kemudian Autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit.
8. Membuat larutan kloramphenicol sebanyak 1 kapsul dengan 10 ml larutan NaCl steril dan homogenkan.
9. Mencampur media SDA yang sudah disterilisasi dengan larutan kloramphenicol lalu homogenkan.

Kloramphenicol : $\frac{2 \text{ ml}}{1000} \times 2100 \text{ ml} = 4,2 \text{ ml}$

Keterangan : $\frac{2 \text{ ml}}{1000} = \text{ketetapan}$

2100 ml = 20 ml x 105 plate

10. Menuang media SDA ke masing – masing petridisk yang sudah berisi 1 ml sampel.

11. Media yang sudah berisi sampel diinkubasi selama 5-7 hari pada suhu ruang.

D. Penanaman Media Kultur

Setelah inkubasi, beberapa koloni dipilih untuk pemurnian. Sebelum digunakan, jarum ose dibakar hingga kawatnya berpijar dan dicuci selama \pm 8–10 detik. Kemudian untuk mendapatkan koloni jamur yang benar-benar murni, jarum ose disentuh pada beberapa koloni jamur. Metode tusuk kemudian digunakan untuk menginokulasikannya pada media Sabouraud Dextrose Agar (SDA) untuk pemecahan koloni. Proses ini dapat diulang beberapa kali untuk mendapatkan koloni yang benar-benar murni. Setelah itu, beberapa tetes aquadest steril diterapkan pada permukaan Hasil pemurnian kemudian disimpan pada suhu ruang selama lima hingga tujuh hari. Pemberian aquadest dapat dilakukan dua atau tiga kali setiap dasar kertas saring kering. (Idrus, 2021).

E. Identifikasi Jamur

Identifikasi dilakukan melalui pemeriksaan mikroskopik dan makroskopik. Pemeriksaan secara makroskopik yaitu dengan melihat koloni yang tumbuh di media SDA kemudian dilakukan karakterisasi morfologi koloni meliputi warna, tekstur, tetes eksudat, dan garis radial, sedangkan pengamatan secara mikroskopik dilakukan dengan menggunakan mikroskop meliputi bentuk spora dan susunan hifa jamur yang tumbuh. Pembuatan preparat dengan mengambil sampel jamur lalu

diberi zat pewarna LPCB dengan cara ditetaskan pada objek glass, kemudian tutup dengan cover glass. Pengamatan dilakukan terhadap penampakan hifa, spora dan konidia yang terbentuk dengan perbesaran 40x. Amati dan dokumentasikan hasil pengamatan tersebut (Sutari, 2020).

3.5.3 Tabulasi Data

Data yang diperoleh ditabulasikan pada tabel 3.1 dibawah ini :

Tabel 3.1 Identifikasi Kapang Kontaminan Pada Air Gentong yang Diminum di Daerah Wisata Sunan Ampel Surabaya

No.	Kode Sampel	Pengenceran	Identifikasi Kapang Kontaminan		Keterangan
			Positif	Negatif	
1.					
2.					
3.					
-					
33.					

3.6 Teknik Analisa Data

Teknik analisis data menggunakan deskriptif kualitatif. Data yang dikumpulkan yaitu adanya kapang kontaminan yang ditemukan dari sampel air gentong lalu dipersentasekan dengan rumus perhitungan dan disajikan dalam bentuk diagram pie/batang.

1. Perhitungan presentase Air Gentong yang tercemar dan Air Gentong yang tidak tercemar kapang kontaminan

$$P = \frac{F}{N} \times 100\%$$

Keterangan :

P= Nilai Presentase

F= Jumlah sampel yang tumbuh/tidak tumbuh

N= Jumlah Sampel

(Yulandina et al., 2018)

2. Perhitungan Presentase Air Gentong yang tercemar masing-masing genus kapang kontaminan

$$\text{Genus Kapang Kontaminan} = \frac{\text{Jamur yang tumbuh}}{\text{Jumlah total jamur}} \times 100\%$$

(Rahman, 2018)