

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif kualitatif, dengan tujuan untuk mengetahui adanya Kapang dalam bak toilet di SPBU wilayah Terminal Bungurasih Surabaya.

3.2 Populasi dan Sampel Penelitian

3.2.1 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah Air pada seluruh bak toilet di SPBU Terminal Wilayah Bungurasih Surabaya sebanyak 18 sampel air

3.2.2 Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah Air pada bak toilet SPBU di wilayah Bungurasih Surabaya. Kemudian melalui tahap pengenceran 10^{-1} s/d 10^{-3} , lalu ditanam pada media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) dengan jumlah 18 sampel air.

3.3 Teknik Sampling

Teknik sampling yang digunakan pada penelitian ini adalah teknik *total Sampling*, yaitu teknik pengambilan sampel dimana jumlah sampel sama dengan populasi .

3.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.4.1 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Surabaya, lokasi pengambilan sampel di SPBU wilayah Terminal Bungurasih Surabaya.

3.4.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2022 – Juli 2023 dan waktu pemeriksaan sampel dilakukan pada bulan April 2023.

3.5 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

3.5.1 Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini adalah adanya Kapang dalam Air pada Bak Toilet di SPBU Wilayah terminal Bungurasih Surabaya.

3.5.2 Definisi Operasional Variabel

Kapang merupakan suatu mikroorganisme yang akan dicari keberadaannya melalui observasi dan uji laboratorium pada Air Toilet SPBU di media SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*) dengan kriteria:

Makroskopis :Ditinjau dari warna koloni, tekstur, topografi, tetesan eksudat, garis radial, dan lingkaran konsentris.

Mikroskopis :

- 1.Hifa : ada / tidak : bersekat (septet) atau tidak bersekat (aseptat) bernodul atau berhizoid ,berspiral.
2. ada dan tidaknya spora , bentuk spora , conidial head , badan buah / tubuh buah / thalus : sterigma sporangium. Pinecelus, arthospora, makrospora, blatospora dsb..

3.6 Teknik Pengumpulan Data

Teknik Pengumpulan data dilakukan dengan uji laboratorium Kapangpada Air Toilet SPBU yang melalui tahap pengenceran 10^{-1} s/d 10^{-3} lalu ditanam pada media *Sabouraud Dextroser Agar* (SDA) kemudian diamati pertumbuhan Kapang yang tumbuh dalam media *Sabouraud Dextroser Agar* dengan menggunakan Mikroskop.

3.6.1 Alat dan Bahan

A. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antar lain : cawan Petri, Tabung reaksi, Sput, 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

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain Air Bak, Media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), Larutan NaCl, Kloramphenicol, Aquadest steril, *Lactophenol Cotton Blue* (LCB).

3.6.2 Prosedur Penelitian

A. Pengambilan Sampel

Sampel diambil dari Bak Toilet 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. (Sukmawati & Hardianti, 2018)

1. Menyiapkan alat dan bahan (steril).
2. Menyiapkan Erlenmeyer dan 3 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 dihomogen.
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 18
8. Hasil pengenceran diambil masing - masing 1 ml dimasukkan ke dalam Petri Steril lalu dituangkan ke media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA)

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

Berdasarkan prosedur pembuatan media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) menurut (Hasbi, 2021), yaitu:

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

Aquadest : 20 ml x 108 plate = 2160 mL

SDA : $\frac{65 \text{ gram}}{1000} \times 2.160 \text{ mL aquadest} = 140,4 \text{ gr SDA}$

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 700 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 : $\frac{2 \text{ ml}}{1000} \times 720 \text{ ml} = 1,4 \text{ ml}$
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.Teknik Tuang

1.Pour Plate Method (Metode cawan tuang)

Cara kerja :

- a. Meteskan 1 ml suspensi sel kedalam cawan petri kosong yang telah steril secara aseptis.
- b. Menuangkan media agar yang hangat (suhu 45 – 50 °C) ke cawan yang telah berisi suspensi bakteri tersebut dan tutup

- c. Dihomogenkan campuran media dan suspensi dengan cara goyangkan atau putar cawan petri secara perlahan membentuk angka delapan (8) di atas meja yang rata dalam kondisi aseptis.
- d. Setelah memadat cawan petri diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu kamar ataupun inkubator selama 24 jam. Amati pertumbuhannya.(buku mikrobiologi umum 2020)

E. Identifikasi Jamur

Identifikasi dilakukan secara makroskopik dan mikroskopik. 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 LCB 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)

3.6.3 Teknik Analisa Data

Data yang dianalisis secara deskriptif dan ditabulasikan dalam bentuk tabel, serta di persentasikan menggunakan rumus sebagai berikut:

Tabel 3.1. Contoh Hasil Pemeriksaan Kapang Pada AIR TOILET SPBU di Wilayah Bungurasih Surabaya.

No	Kode Sampel	Hasil Pemeriksaan Jamur		Keterangan
		Positif	Negatif	
1				
2				
3				
...				
30				

Berdasarkan pengolahan sampel yang telah dilakukan, dilanjutkan dengan rumus sebagai berikut :

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

Keterangan:

P = Presentase

f = Frekuensi sampel

N = Jumlah sampel yang di teliti

Identifikasi sampel penelitian ini dalam bentuk tabel, di presentasikan dan di distribusikan dalam bentuk diagram.