BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Pengambilan sampel dilaksanakan di ruangan kampus FMIPA Undip Semarang dan untuk tahap isolasi, identifikasi serta penghitungan koloninya dilakukan di laboratorium Mikrobio-genetika Jurusan Biologi FMIPA Undip Semarang.

Waktu pelaksanaan penelitian pada bulan Desember 1999 sampai Mei 2000.

B. Alat dan Bahan

Alat:

mikroskop, autoklaf, cawan petri, inkubator, "laminar air flow" (LAF), tabung reaksi, gelas penutup, gelas benda, ose runcing, lampu spiritus, gelas ukur, termometer, higrometer.

Bahan :

Medium TEA (Tauge Ekstrak Agar): tauge 100 gr, sukrosa 60 gr, agar 15-20 gr untuk 1 liter medium, pH akhir medium 5-6, Medium PDA (Potato Dextrose Agar) : ekstrak kentang (200 gr dalam 1 liter air), dekstrosa 20 gr, agar 20 gr, pH akhir medium 5.6 ± 0.1, Medium CDA (Czapek's Dextrose Agar) : aquades 1 liter, $NaNO_3$ 3 gr, K_2HPO_4 1 gr,

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation :(http://eprints.undip.ac.id)

$MgSO_4.7H_2O$ 0.5 gr, KCL 0.5 gr, $FeSO_4.7H_2O$ 0.01gr, sukrosa 30.0 gr, agar 15.0 gr, pH akhir medium 6.2 ± 0.2, Medium MEA (Malt Extract Agar) : malt 30 gr , aquades 1000 ml, pepton 3 gr, agar 15.0 gr, pH akhir medium 5.6 ± 0.1, Antibiotik kloramfenikol 50 ppm untuk 1 liter medium, Aquades steril, Alkohol 70 %

C. Cara Kerja

1. Penentuan Titik Sampling

Lokasi sampling ditentukan secara purposif pada 7 ruangan di kampus FMIPA Undip, yaitu:

- ruangan perkuliahan B105 lantai I (sampel 01) pada ketinggian 0 m
- ruangan perkuliahan B203ab lantai II (sampel 02) pada ketinggian 3,5 m
- ruangan perkuliahan A304 lantai III (sampel 03) pada ketinggian 7 m
- ruangan perpustakaan (sampel 04) pada ketinggian 1 m
- ruangan dekan FMIPA (sampel 05) pada ketinggian 3,5 m
- ruangan kamar mandi + WC lantai I mahasiswa (sampel 06) pada ketinggian 0 m
- ruangan pertemuan lantai III dekanat (sampel 07) pada ketinggian 7 m

Alasan penentuan lokasi sampling ini adalah karena adanya kumpulan kondisi yang terdiri dari berbagai komponen lingkungan berkaitan dengan kualitas udara.

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

2. Pengambilan sampel

Masing-masing lokasi sampling ditentukan 3 titik sampling dengan lokasi dan ketinggian yang berbeda. Titik lokasi I dekat pintu masuk ruangan, titik lokasi II bagian tengah ruangan dan titik lokasi III bagian pinggir dekat jendela untuk masing-masing ruangan. Masing-masing titik lokasi diambil satu sampel. Pengambilan sampel dilakukan pada waktu siang hari (jam 13.00 - 14.00 WIB). Metode yang digunakan secara semi kuantitatif, yaitu dengan cara mendedahkan cawan petri yang berisi medium TEA sebanyak 8-10 ml selama 15 menit ke udara, kemudian ditutup secara aseptik dan diinkubasikan pada temperatur 28°C selama 3 hari. Setiap 24 jam diamati pertumbuhan koloni kapang. Koloni yang tumbuh dihitung dan untuk konfirmasi dilakukan pemeriksaan mikroskopik (Mangunwardoyo dan Gandjar, 1990, Wibowo dan Ristanto, 1988). Untuk menghambat pertumbuhan bakteri digunakan antibiotik kloramfenikol 50 ppm dalam 1 liter medium yang ditambahkan sewaktu pembuatan medium TEA sebelum proses sterilisasi (Gams *et al.*, 1987).

3. Isolasi Kapang

Koloni kapang representatif yang tumbuh pada medium TEA dipindahkan ke medium PDA untuk ditumbuhkan sebagai biakan murni. Sebelum diidentifikasi masing-masing isolat dipindahkan ke medium PDA dan CDA atau MEA (Jutono dkk, 1973).

4. Pengamatan Morfologi Kapang

Gelas benda dibersihkan dengan alkohol sampai bebas dari debu dan lemak, kemudian ditetesi laktofenol pada bagian tengah. Biakan kapang diambil sedikit dengan jarum preparat dan diletakkan diatas gelas benda yang telah diberi larutan

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

laktofenol. Kemudian ditutup dengan gelas penutup dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran lemah sampai sedang (Jutono, dkk, 1973).

5. Identifikasi kapang

Identifikasi kapang dilakukan dengan pengamatan morfologi, selanjutnya diidentifikasi menggunakan buku-buku identifikasi seperti:

- *Aspergillus* menurut: Samson *et al* (1984), Raper dan Fennel (1965), Raper dan Thom (1951).
- *Penicillium* menurut: Pitt (1979), Samson *et al* (1984).
- Dematiaceae menurut: Ellis (1971).
- *Fusarium* menurut: Samson *et al* (1984)
- *Rhizopus* dan *Absidia* menurut: Samson *et al* (1984) dan Gandjar (1988).

6. Jumlah Jenis Kapang

Koloni kapang yang tumbuh pada setiap cawan dihitung jumlah jenisnya.

D. Parameter yang diamati adalah :

1. Koloni kapang, yaitu jumlah koloni kapang pengkontaminan udara yang representatif / tumbuh dan telah diidentifikasi serta dihitung.

   Penghitungan: secara langsung dan mikroskopik.

   Jenis data: nominal

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

2. Jumlah jenis kapang, yaitu jumlah jenis masing-masing kapang pengkontaminan udara dalam ruangan kampus FMIPA yang telah diidentifikasi dan dihitung.

   Penghitungan : secara langsung dan mikroskopis

   Jenis data : nominal

3. Kelembaban dan temperatur ruangan.

   Kelembaban : kadar air dalam udara didalam ruangan tempat kerja yang diukur dalam satuan % dengan menggunakan alat higrometer.

   Jenis data : nominal

   Temperatur : derajat panas/dingin didalam ruangan yang diukur dalam satuan derajat Celcius dengan menggunakan termometer ruangan.

   Jenis data : nominal

E. Analisis Data

Hasil yang didapatkan dalam penelitian ini dianalisis dengan menggunakan analisis deskriptif.

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)