

BAB III METODELOGI PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu

Penelitian dan pengamatan media bakteri dilakukan di Laboratorium Biologi dan pengambilan sampel dilakukan pada ruangan ber-AC di Ruang dosen prodi pendidikan biologi, Ruang perkuliahan kelas MM03 dan Ruang laboratorium biologi di Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang, pada bulan Maret 2019.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah cawan petri, bunsen, autoklaf, inkubator, pipet tetes, spatula, mikroskop, opti lab, hot plate, elenmeyer, magnetic stirrer, koloni counter, laminar air flow, gelas ukur, kaca objek, kaca penutup, jarum ose, thermometer, dan kamera.

2. Bahan

Bahan yang digunakan media *Nutrient Agar* (NA), aquades, kristal violet, larutan iodine, alkohol 70%, larutan sapranin, spiritus, kapas, kain kasa, korek api, aluminium foil, plastik wrap, mikroba yang ada di ruangan ber-AC.

C. Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif kualitatif dan eksperimen dengan teknik survei dan studi identifikasi yaitu dengan mengambil sampel langsung dari mikroba pada ruangan ber-AC di Ruang dosen program studi pendidikan biologi, Ruang perkuliahan kelas

MM03 dan Ruangan laboratorium biologi Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang dan melakukan isolasi serta identifikasi morfologi meliputi morfologi koloni (bentuk koloni, warna koloni, tepian koloni, elevasi) dan morfologi mikroba (bentuk sel dan pewarnaan gram) terhadap mikroba pada ruangan ber-AC di Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang (Sugiyono, 2013).

D. Teknik Pengambilan sampel

Teknik pengambilan data dilakukan melalui observasi, survei dan studi identifikasi dengan mengambil sampel bakteri langsung dari ruangan ber-AC di Ruang dosen program studi pendidikan biologi, Ruang perkuliahan kelas MM03 dan Ruangan laboratorium biologi Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang, pengambilan sampel yang digunakan pada penelitian ini berupa bakteri udara pada ruangan ber-AC menggunakan teknik *purpose sampling* dengan penentuan beberapa ruangan satu ruangan untuk mewakili sampel penelitian, pengambilan sampel dilakukan pada tiga ruangan yang berbeda selama 2 hari. Setelah sampel di dapat dilakukan inkubasi di laboratorium selama 48 jam didalam inkubator, lalu dilakukan pemurnian dan pewarnaan gram dengan berbagai macam larutan Kristal Violet, Larutan Iodine, Larutan Safranin, kemudian sampel media *Nutrient agar* (NA) untuk mengambil bakteri diruangan ber-AC, lalu bakteri yang didapat pada saat pengambilan sampel bakteri diamati dengan menggunakan objek glass dan deck glass dibawah mikroskop dan optilab (Sugiyono, 2008).

E. Uji Hipotesis

Uji hipotesis digunakan untuk menguji hipotesis yang dikemukakan dalam penelitian, yaitu adakah bakteriologi pada ruangan ber-AC di fakultas ilmu tarbiyah dan keguruan universitas islam negeri raden fatah Palembang.

Hipotesis yang akan diujikan adalah:

H_0 = Tidak terdapat bakteriologi pada ruangan ber-AC di fakultas ilmu tarbiyah dan keguruan.

H_a = Terdapat bakteriologi pada ruangan ber-AC difakultas ilmu tarbiyah dan keguruan

F. Cara Kerja

Adapun cara kerja yang akan dilakukan untuk penelitian uji mikroba ini yaitu :

1. Sterilisasi

Pertama-tama alat-alat yang akan digunakan di bungkus menggunakan aluminium foil, di tutup rapat agar tidak ada celah atau bolong lalu di sterilisasi dengan menggunakan autoklaf dengan suhu 110°C dan selama 30 menit agar alat-alat yang digunakan dapat steril dan tidak terkontaminasi (Lestari, 2016).

2. Pembuatan media

Setelah dilakukannya sterilisasi alat maka dapat dilakukan pembuatan media dengan media *Nutrient agar* sebanyak 10 gram yang sudah ditimbang dengan timbangan analitik dan aquades 500 ml di tuang di dalam Erlenmeyer lalu di panaskan diatas hotplate dengan suhu 220 diaduk magnetic stirrer tunggu hingga larutan sampai jernih dengan warna kuning

terang setelah larutan jernih, larutan dibungkus menggunakan aluminium foil dan mulut elenmeyer ditutup dengan menggunakan kain kasa dan kapas yang dibentuk bulat, setelah itu disterilisasi dengan menggunakan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 110°C . Lalu dilakukan penuangan media NA didalam laminar air flow, pertama media yang didalam laminar air flow disterilkan selama 10 menit, kemudian dilakukan pembuatan sampel dengan menyemprotkan seluruh bagian tangan dengan alkohol agar bersih dan steril ketika tangan akan masuk kedalam laminar air flow, buka sedikit kaca laminar air flow lalu hidupkan bunsen dan buka cawan petri yang telah disteril kemudian dipiksasi pinggiran cawan petri dengan bunsen lalu buka tutup elenmeyer piksasi mulutnya diatas api bunsen, buka cawan petri dan tuang media sebanyak 10 ml diatas bunsen, Setelah media dituang mulut elenmeyer dipiksasi lagi dengan api bunsen kemudian ditutup dan cawan petri ditutup dengan isolasi agar tidak terkontaminasi (Lestari, 2016).

3. Pengambilan sampel

Pengambilan sampel yang dilakukan pada penelitian ini berupa mikroba udara pada ruangan ber-AC di Fakultas Ilmu Tarbiyah dan keguruan pada ruangan dosen prodi pendidikan biologi, Ruang perkuliahan kelas MM03 dan Ruang laboratorium biologi. Pertama-tama pengambilan sampel bakteri diruangan ber-AC dengan cara ukur suhu ruangan pada setiap ruangan menggunakan thermometer, setelah diukur suhu media diletakkan disudut yang akan dilakukan penelitian untuk meletakkan cawan petri yang berisi *Nutrient agar* (NA) yang pinggiran cawan petri sudah disterilkan dengan menggunakan api bunsen lalu dibuka sebesar 45° selama

25 menit dan 50 menit sebelum ruangan digunakan atau pada pagi hari dan ketika ruangan sedang digunakan atau pada siang hari. Setelah selesai perlakuan pengambilan sampel, cawan petri yang berisi media NA ditutup, kemudian pinggiran cawan petri disterilisasikan dengan api bunsen, kemudian dibungkus secara terbalik (Anonim, 2013).

4. Inkubasi

Setelah pengambilan sampel dilakukan, maka sampel dibawa ke laboratorium untuk diinkubasi didalam inkubator selama 48 jam atau selama 2 hari pada suhu 37° C. kemudian setelah diinkubasi baru dilakukannya pengamatan morfologi koloninya, bentuk koloni, elevasi, tepian, jumlah koloni, diameter dan pewarnaan gram (Anonim, 2013).

5. Pewarnaan Gram

Sesudah sampel diinkubasi dilakukan pewarnaan gram untuk melihat apakah bakteri tersebut sudah murni apa belum, pertama gelas objek dan kaca objek disterilkan dengan api bunsen, kemudian sampel diambil secara aseptis 1 ose isolate dengan menggunakan jarum ose yang disterilkan dengan api bunsen lalu diratakan diatas kaca objek. Setelah itu sampel ditetesi dengan satu tetes aquadest steril dan difiksasi diatas nyala api. Kemudian ditetesi dengan larutan Kristal violet diamkan 1 menit, lalu dicuci dengan aquadest steril dari botol semprot dan dikeringkan. Kemudian ditetesi dengan larutan iodine dan didiamkan selama 1 menit, lalu dicuci dengan aquadest steril dari botol semprot dan dikeringkan. Kemudian ditetesi dengan alkohol 70% dan didiamkan selama 30 detik, lalu dicuci dengan aquadest steril dari botol semprot dan dikeringkan. Kemudian ditetesi dengan larutan safranin dan

diamkan selama 2 menit, lalu dicuci dengan aquadest steril dari botol semprot dan dikeringkan. Sel bakteri gram positif akan berwarna ungu, sedangkan sel bakteri gram negatif akan berwarna merah (Jutono, 2010).

6. Pengamatan Dengan Menggunakan Mikroskop dan Optilab

Dilakukan pengamatan morfologi, warna, ukuran koloni, tepian koloni, jumlah koloni, pewarnaan gram dan bentuk koloni dari sel bakteri tersebut, apakah coccus, basil dan spiral yang menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x. Setelah didapat hasil, sampel difoto menggunakan kamera. Kemudian diberikan kode pada tiap-tiap koloni yang memiliki karakteristik yang berbeda-beda, lalu diteliti hasilnya.

G. Analisa Data

Untuk identifikasi pada tahap awal dilakukan pewarnaan gram untuk melihat apakah bakteri tersebut sudah murni atau belum. Pewarnaan dengan metode gram. Gelas objek di sterilkan dengan cara menyemprotkan alkohol 70% dan dibiarkan mengering, kemudian diambil secara aseptis 1 ose isolat bakteri yang lolos seleksi tahap 2, diratakan di atas kaca objek dengan satu tetes aquadest steril dan difiksasi di atas api nyala api. Kemudian ditetesi dengan larutan Kristal violet dan didiamkan selama 1 menit, lalu dicuci dengan aquadest steril dari botol semprot dan dikeringkan. Kemudian ditetesi dengan larutan iodine dan didiamkan selama 1 menit, lalu dicuci dengan aquadest steril dari botol semprot dan dikeringkan. Kemudian ditetesi dengan alkohol 70% dan didiamkan selama 30 detik, lalu dicuci dengan aquadest steril dari botol semprot dan dikeringkan. Kemudian ditetesi dengan larutan safranin dan didiamkan selama 2 menit, lalu dicuci dengan aquadest steril dari botol

semprot dan dikeringkan. Selanjutnya dilakukan pengambilan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Sel bakteri gram positif akan berwarna ungu, sedangkan sel bakteri gram negatif akan berubah warna menjadi merah, kemudian diamati pula bentuk dari sel bakteri tersebut, apakah coccus, basil atau spiral. Bakteri yang didapat dari hasil isolasi diidentifikasi meliputi bentuk koloni, bentuk tepian, bentuk permukaan, warna, ukuran koloni, jumlah koloni dan pewarnaan gram (Jutono, 2010).