

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian ekperimental yang bertujuan untuk mengetahui jenis jamur *Dermatophyta* pada kulit anjing.

B. Tempat dan waktu penelitian

Pelaksanaan uji jenis jamur *Dermatophyta* di lakukan di laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta pada bulan Maret 2025.

C. Sampel penelitian

Sampel dalam penelitian ini yang diperiksa adalah usapan kulit dari 5 anjing.

D. Metode Pengumpulan Data

Data dalam penelitian ini merupakan data primer yang diperoleh melalui pengamatan langsung terhadap sampel. Identifikasi jamur *dermatofita* dilakukan dengan metode laboratorium, yaitu menumbuhkan koloni jamur pada media agar. Setelah koloni terbentuk, dilakukan pewarnaan menggunakan *Lactophenol Cotton Blue* untuk mempermudah visualisasi struktur mikroskopis. Selanjutnya, preparat diamati di bawah mikroskop guna mengidentifikasi karakteristik morfologi jamur dermatofita, baik pada tingkat makroskopis maupun mikroskopis. Prosedur ini memungkinkan peneliti memastikan jenis jamur penyebab infeksi secara lebih akurat.

E. Alat dan Bahan

1. Alat

- a. Tabung Reaksi
- b. Rak Tabung Reaksi
- c. Autoklaf
- d. Oven
- e. Inkubator
- f. Cawan Petri

- g. Ose
- h. Kapas Lidi Steril
- i. Laminar Air Flow
- j. Lampu Spirtus
- k. Mikroskop
- l. Objek Glass
- m. Kompor
- n. Cotton swab

2. Bahan

- a. Kerokan kulit anjing
- b. Media *Potato Dextrose Agar* (PDA)
- c. Media *Saboroud Glukosa Agar* (SGA)
- d. Aquadest steril
- e. Alkohol 70%
- f. Larutan *Lactophenol Cotton Blue*

F. Prosedur Penelitian

1. Prosedur sterilisasi alat dan bahan

a. Sterilisasi menggunakan autoklaf

- 1) Mengisi bagian dasar autoklaf dengan aquades hingga batas tertentu.
- 2) Menutup sekat yang berlubang-lubang antara bagian dasar dan bagian atas Autoklaf.
- 3) Memasukkan alat yang akan disterilkan seperti Scalpel, Erlenmeyer, Botol kultur, Tabung reaksi, Gelas ukur, dan Media kultur
- 4) Menutup autoklaf dengan seksama dan serapih mungkin, dengan cara berlawanan.
- 5) Membuka katup udara agar uap air dapat mengusir udara yang ada dalam Autoklaf pada saat pemanasan.
- 6) Apabila suhu telah mencapai 100C tutuplah katup udara untuk meningkatkan tekanan uap di dalam autoklaf.
- 7) Perhatikan kenaikan suhu atau tekanan uap apabila telah mencapai 121°C dengan tekanan 1,1 kg/ cm² atau 10 Lb. Sterilisasi dipertahankan 15 menit
- 8) Membuka katup autoklaf dengan cara buka-tutup hingga tekanan uap turun.

- 9) Membuka tutup autoklaf dengan hati-hati, kemudian mengeluarkan alat dan bahan-bahan yang telah disterilisasi

b. Sterilisasi menggunakan oven

- 1) Menghubungkan alat oven laboratorium ke sumber listrik.
- 2) Setelah alat-alat telah di Autoklaf maka dilanjutkan dengan sterilisasi menggunakan oven agar sterilisasi tetap terjaga sebelum siap digunakan
- 3) Meletakkan alat laboratorium yang akan disterilisasi seperti Cawan petri, Sendok steril, Beaker glass, Pipet volume, dll. Untuk peralatan kaca sebaiknya dibungkus terlebih dahulu dengan koran supaya tidak rentan langsung terpapar panas)
- 4) Susunan sebaiknya jangan terlalu penuh, karena pemanasan tidak akan merata.
- 5) Setelah itu pastikan pintu oven tertutup rapat.
- 6) Nyalakan oven laboratorium dengan menekan tombol 'ON'.
- 7) Setelah itu atur suhu yang dibutuhkan 170-180°C selama 1 jam
- 8) Buka lubang udara atau 'poros udara' untuk menurunkan suhu di dalamnya.
- 9) Setelah selesai, alat alat yang ada di dalamnya jangan langsung diambil, karena masih panas, sebaiknya tunggu dulu sampai suhu turun.
- 10) sebaiknya peralatan segera dipakai setelah dilakukan sterilisasi.

2. Pemeriksaan Tidak Langsung

a. Pembuatan Plat Agar

- 1) Ditimbang *Potato Dekstrosa Agar* sebanyak 9,75 gram
- 2) Ditambahkan aquadest samapi 250 ml
- 3) Ditambah kloramfenikol 25 mg
- 4) Didihkan kemudian dituang ke tabung reaksi masing-masing 10 ml
- 5) Ditutup kuat dengan kapas
- 6) Disterilkan pada autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit

- 7) Dituang ke dalam cawan petri steril

b. Pengambilan usapan kulit

- 1) Bagian kulit yang akan diusap/swab, dibersihkan dengan alkohol 70% dan ditunggu hingga kering
- 2) Pada tempat tumbuh jamur diusap dengan menggunakan cotton swab steril yang sudah direndam aquadest steril dengan cara diusap searah dari atas ke bawah
- 3) Swab kulit digoreskan pada cawan plate agar dan sampel siap untuk diperiksa.

c. Teknik isolasi Jamur

- 1) Media *potato Dekstroza Agar* dibuka secara aseptis
- 2) Bahan yang akan diperiksa diambil dengan kapas lidi steril, lalu dibasahi dengan aquades steril, lalu dioleskan zig zag pada media secara merata
- 3) Cawan petri ditutup lalu dibungkus dengan kertas koran
- 4) Dinkubasi selama 5-7 hari dalam suhu ruang
- 5) Setelah 5-7 hari, diamati koloni yang tumbuh

d. Pembuatan Preparat

- 1) Objek glass dibersihkan dengan alkohol 70%
- 2) Dipanaskan di atas api spiritus beberapa detik
- 3) Ditetaskan 1-2 tetes pewarna *Lactophenol Cotton Blue*
- 4) Diambil koloni kapang berwarna putih yang tumbuh pada media PDA, lalu diletakkan pada objek glass yang telah diberi pewarna LPCB. Hifa dibiarkan terentang
- 5) Ditutup dengan deck glass lalu diamati pada mikroskop pebesaran lemah ke sedang. (Munadhifah, 2020)

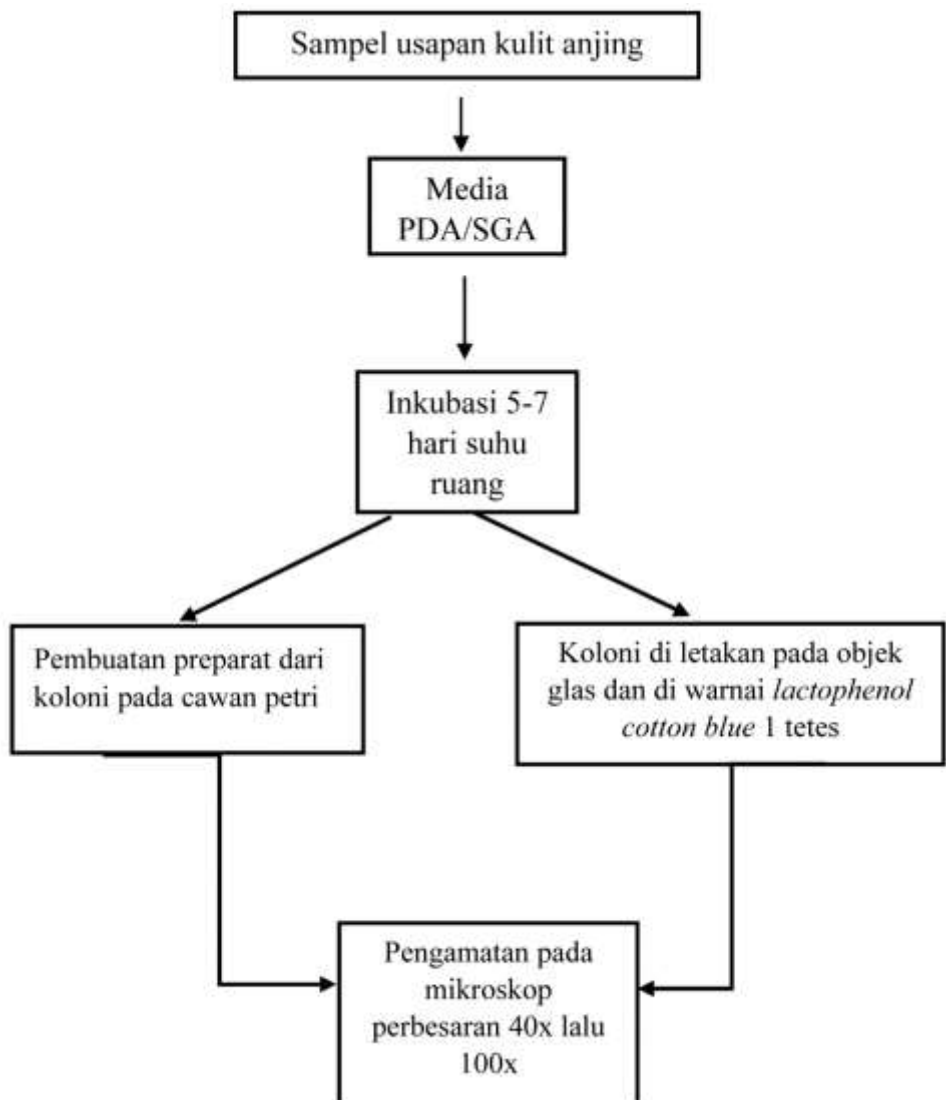
3. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data dilakukan dengan memperoleh data primer. Data primer merupakan data yang didapatkan secara langsung oleh peneliti dengan memeriksa hasil kultur jamur usapan kulit anjing peliharaan yang diduga terinfeksi jamur *dermatophyta*.

4. Metode analisis data

Hasil yang didapatkan dengan metode pemeriksaan tidak langsung yang diamati yaitu adanya jenis pertumbuhan jamur *Dermatophyta* pada sampel usapan kulit anjing yang mengalami luka.

5. Alur penelitian



Gambar 9. ALur penelitian