

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kuantitatif dengan studi pendekatan Cross Sectional yang nantinya peneliti akan melakukan observasi pada waktu yang sama.

3.2 Lokasi Dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian dilakukan di Wilayah Kerja Puskesmas Desa Lalang Kecamatan Medan Sunggal Kota Medan. Adapun waktu penelitian ini dilakukan bulan Februari 2024 sampai Juni 2024.

3.3 Objek Dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi

Adapun populasi dalam penelitian ini adalah 20 depot atau total keseluruhan DAMIU di Wilayah Kerja Puskesmas Desa Lalang Kecamatan Medan Sunggal.

3.3.2 Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 20 sampel air minum dari 20 DAMIU Wilayah Kerja Puskesmas Desa Lalang Kecamatan Medan Sunggal.

3.3.3 Teknik Pengambilan Sampel

Teknik pengambilan sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah teknik total sampling.

3.4 Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel Penelitian

No	Variabel	Defenisi Operasional	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
1	Kandungan Escherichia Coli	Bakteri yang menjadi indikator adanya pencemaran pada air minum	Uji Laboratori um (Most Probably Number)	Pemeriksaan laboraturium	1. Memenuhi syarat apabila jumlah bakteri 0/100ml per sampel (Negatif). 2. Tidak memenuhi syarat apabila jumlah bakteri >0/100ml per sampel (positif). (Permenkes, 2010)	Ordinal
2	Higiene Penjamah	Semua aspek yang melibatkan kebersihan para karyawan yang mengawasi seluruh proses pembuatan air minum di depot air isi ulang. (Permenkes, 2014)	Lembar ceklis Permenkes	Wawamcara dan observasi	Skor nilai : 1. Tidak memenuhi syarat : <70% 2. Memenuhi syarat : >70% (Permenkes, 2014)	Ordinal
3	Sanitasi Tempat	Kebersihan di sekitar fasilitas air minum isi ulang, termasuk kebersihan tempatnya, bangunan, dan lokasinya yang harus jauh dari sumber pencemaran. (Permenkes, 2014)	Lembar ceklis Permenkes	Observasi	Skor nilai : 1. Tidak memenuhi syarat : <70% 2. Memenuhi syarat : >70% (Permenkes, 2014)	Ordinal

4	Sanitasi Peralatan	Kebersihan semua peralatan penyaringan yang digunakan harus dipertahankan agar proses produksi air minum di depot isi ulang tidak terkontaminasi oleh faktor-faktor yang dapat merusak kualitas air minum. (Permenkes, 2014)	Lembar ceklist Permenkes	Wawancara dan observasi	Skor nilai : 1. Tidak memenuhi syarat : <70% 2. Memenuhi syarat : >70% (Permenkes, 2014)	Ordinal
---	--------------------	--	--------------------------	-------------------------	---	---------

3.5 Teknik Pengumpulan Data

3.5.1 Jenis Data

Data yang diterapkan adalah data primer. Data tersebut dikumpulkan melalui beberapa metode, termasuk pengamatan secara langsung menggunakan lembar periksa terhadap objek pengamatan, serta tanya jawab dengan responden memakai kuesioner sesuai dengan Permenkes No. 43 Tahun 2014 tentang higiene sanitasi depot air minum. Selain itu, air minum yang dihasilkan dari setiap depot juga diambil sampelnya untuk pemeriksaan laboratorium.

3.5.2 Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian ini adalah kuesioner yang berupa daftar pertanyaan terkait dengan penelitian ini. Alat bantu lainnya dalam mengumpulkan data adalah menggunakan jasa laboratorium sebagai alat uji pada penelitian ini dengan menggunakan uji MPN (*Most Probable Number*).

3.6 Metode Laboratorium Uji MPN

A. Pengambilan Sampel

- a) Persiapkan semua kebutuhan untuk pengambilan sampel, termasuk alat tulis, formulir pemeriksaan yang mencatat Titik pengambilan sampel dan botol penyimpan sampel.
- b) Botol di sterilisasi dengan cara direbus
- c) Siapkan air minum yang akan diambil dan ditempatkan dalam botol sampel steril
- d) Beri kode nomor memakai spidol di botol
- e) Pengiriman sampel dalam waktu 3 jam atau lebih cepat hingga sampai laboratorium

B. Alat dan bahan yang diperlukan

1. Alat-alat yang diperlukan

Untuk menjalankan prosedur, berbagai alat penting diperlukan. Autoclave digunakan untuk sterilisasi, inkubator menjaga suhu optimal, dan rak tabung reaksi serta tabung reaksi mendukung pengujian. Lampu spiritus berguna untuk pembakaran, sementara pipet steril dan kawat ose membantu pengambilan dan penanaman sampel. Tabung Durham steril dan botol sampel steril menjaga kebersihan sampel. Kapas dan kain lap menjaga kebersihan area kerja, dan spidol untuk penandaan.

2. Bahan yang diperlukan

- a) Sampel air
- b) Laktosa buah (LB)
- c) Brilliant Green LactoseBileBroth (BGLB)
- d) Lugol 1%
- e) Gentian violet

- f) Alkohol
- g) Media agar

C. Cara Pemeriksaan Laboratorium

Pemeriksaan MPN dilakukan menggunakan metode tabung ganda pada bahan pemeriksaan yang telah disiapkan, yaitu: (5 x 10 ml); (1 x 1 ml); (1 x 0,1 ml). Metode tabung ganda ini mencakup uji pendahuluan (Presumptive Test) dan uji penegasan (Confirmative Test).

2. Test Pendahuluan (Presumptive Test)

Media yang digunakan adalah Lactose Broth, cara pemeriksaan yaitu:

- 1) Siapkan 10 tabung reaksi yang diisi masing-masing dengan 10 ml media Lactose Broth. Tempatkan tabung-tabung tersebut di rak tabung reaksi dan beri label pada setiap tabung dengan informasi nomor urut, tanggal pemeriksaan, dan volume.
- 2) Ambil sampel dari bahan pemeriksaan yang telah disiapkan, yaitu makanan jajanan, menggunakan pipet steril, dan tuangkan ke dalam tabung-tabung berikut:
 - a. Tabung 1 hingga 5 masing-masing diisi dengan 10 mL
 - b. Tabung 6 diisi 1 mL.
 - c. Tabung 7 s/d 10 diisi 0,1 ml.

Setelah itu, goyang-goyangkan setiap tabung untuk memastikan campuran antara spesimen dan media.

- 3) Suhu inkubasi diatur antara 35°C dan 37°C dan berlangsung 24 jam. Setelah itu, diperiksa apakah terjadi pembentukan gas di

dalam tabung Durham. Hasilnya dicatat untuk tabung yang menampilkan adanya produksi gas dari laktosa. Jika inkubasi dilanjutkan pada suhu 37°C selama 24-48 jam, kemudian ditinjau lagi guna proses gas di tabung Durham. Untuk tabung yang menunjukkan adanya gas dari laktosa, hasil dicatat. Jika gas terbentuk dalam tabung Durham selama tes awal, hasil tersebut dianggap positif (+) dan dilanjutkan ke tes penegasan. Jika tidak ada gas, tes penegasan tidak diperlukan.

3. Test Penegasan (Confirmative Test)

Untuk tes ini, digunakan media *Brilliant Green Lactose Broth* (BGLB) 2% dengan tujuan menegaskan hasil positif dari tes awal.

Metode pemeriksaannya adalah:

- a. Dari setiap tabung presumtif yang menunjukkan hasil (+), diambil 1-2 ase untuk diinokulasi ke dalam tabung konfirmatif yang berisi 10 ml BGLB 2%. Setiap tabung presumtif diinokulasi ke dalam dua tabung BGLB 2%.
- b. Tabung BGLB 2% diinkubasi pada rentang suhu 35-37°C selama 24 sampai 48 jam untuk mendeteksi keberadaan *coliform*, sementara set lainnya diinkubasi di suhu 44°C selama 24 jam untuk mendeteksi keberadaan coli fecal.
- c. Hasil dibaca setelah 24-48 jam untuk mengukur jumlah tabung BGLB yang memperlihatkan hasil (+). Tes penegasan ini penting dilakukan dalam pemeriksaan bakteriologis pada makanan dan minuman.

3.7 Analisa Data

1. Analisis Univariat

Analisis univariat untuk memeriksa distribusi frekuensi setiap variabel secara terpisah, memberikan gambaran tentang penyebaran variabel dalam sampel. Dengan melakukan analisis univariat, kita dapat memahami karakteristik masing-masing variabel tanpa mempertimbangkan hubungan dengan variabel lainnya dalam satu waktu.

2. Analisis Bivariat

Analisis bivariat menggunakan uji Chi Square untuk mengevaluasi hubungan antara dua variabel. Nilai $P < 0,05$ menunjukkan hubungan signifikan, sedangkan $P > 0,05$ menunjukkan tidak ada hubungan signifikan. Variabel dependen dalam konteks ini adalah sanitasi tempat, sanitasi penjamah, dan sanitasi peralatan.