

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain cross-sectional dan metodologi deskriptif. Bakteri *Escherichia coli* diperiksa menggunakan pendekatan Most Probable Number (MPN). Penelitian ini bertujuan untuk menilai beban bakteri *Escherichia Coli* di laboratorium air minum isi ulang dan kebersihan diri petugas air minum isi ulang di Kecamatan Medan Johor.

3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.2.1 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada depot air minum isi ulang di Kecamatan Medan Johor dan dilakukan uji laboratorium di Balai Laboratorium Kesehatan Masyarakat (BLKM) Kelas 1 Medan.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan mulai dari bulan Maret 2024 sampai dengan Agustus 2024.

3.3 Objek dan Sampel Penelitian

3.3.1 Objek Penelitian

Objek penelitian ini adalah depot air minum isi ulang yang berada di Kecamatan Medan Johor.

3.3.2 Sampel Penelitian

Proses pengambilan sampel dilakukan dengan simple random sampling. Tahap awal yang dilakukan adalah pencatatan nama seluruh populasi yang telah teridentifikasi. Tahap selanjutnya adalah penghitungan menentukan sampel.

Adapun rumus sampel untuk menentukan banyaknya sampel depot yang akan teliti yaitu sebagai berikut:

$$n = \left(\frac{z\alpha \cdot s}{d} \right)^2$$

Keterangan : $z\alpha$: tingkat kepercayaan

(10% atau 1,96) S : SD variabel yang

diteliti

d : Presisi

n : Sampel

Maka perhitungan sampel Air Minum Isi Ulang sebagai berikut :

$$n = \left(\frac{z\alpha \cdot s}{d} \right)^2$$

$$n = \left(\frac{1,96 \cdot 1}{0,5} \right)^2$$

$$n = 7,84 \approx 8$$

Berdasarkan hasil perhitungan sampel didapatkan jumlah sampel 7,84 dibulatkan menjadi 8 sampel.

Adapun rumus sampel untuk menentukan banyaknya sampel manusia yang akan teliti yaitu sebagai berikut:

$$n = \left(\frac{z\alpha \cdot p \cdot q}{d^2} \right)$$

$z\alpha$: tingkat kepercayaan (10% atau 1,96)

p : proporsi personal higiene yang tidak memenuhi syarat (0,667%)

(Peneliti terdahulu Efri Malisa,2015)

q : proporsi personal higiene yang memenuhi syarat (0,333%)

(Peneliti terdahulu Efri Malisa,2015)

d : Presisi

n : sampel

$$n = \left(\frac{1,96 \cdot 0,667 \cdot 0,333}{0,1^2} \right)$$

$$n = 43,5 \approx 44$$

Berdasarkan hasil perhitungan sampel didapatkan jumlah sampel 43,5 dibulatkan menjadi 44 sampel.

3.4 Metode Pengumpulan Data

3.4.1 Data Primer

Data primer adalah data yang memberikan akses langsung kepada pengumpul data terhadap informasi. Sumber data utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah wawancara dengan pemilik Depot Air Minum dan pengelolanya, serta hasil uji laboratorium air minum yang dilakukan di Pusat Laboratorium Kesehatan Lingkungan untuk memastikan ada atau tidaknya *Escherichia coli*.

3.4.2 Instrumen Penelitian

Menurut Suharsini Arikunto (2018), instrumen penelitian merupakan peralatan atau sarana yang digunakan peneliti untuk mengumpulkan data guna memperlancar pekerjaannya dan menghasilkan hasil yang lebih baik serta lebih mudah dianalisis karena lebih akurat, komprehensif, dan sistematis. Berikut ini adalah instrumen penelitian::

1. Uji Laboratorium
2. Kuesioner

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Uji Laboratorium

A. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah :

1. Neraca listrik (Mettler Toledo)
2. Erlenmeyer
3. Kapas
4. Aluminium foil
5. Tabung reaksi (Pyrex)
6. Rak tabung
7. Tabung durham
8. Pipet volum
9. Bola karet
10. Inkubator (Fischer scientific)
11. Cawan petri
12. Kawat oser
13. Lampu bunsen
14. Objek glass
15. Deck glass
16. Pipet tetes
17. Mikroskop (Olympus)
18. Lemari pendingin (Toshiba).

Bahan-bahan yang digunakan antara lain :

1. Buffered Pepton Water (BPW)
2. Lactosa Broth (LB)

3. Brilliant Green Bile Broth (BGLB) 2 %
4. MacConkey Agar (MCA)
5. Silfide Indol Motility (SIM)
6. Triple Sugar Iron (TSI)
7. Simmon Citrate Agar (SCA)
8. Larutan gentian violet
9. Larutan lugol
10. Alkohol
11. Larutan fuchsin
12. Pereaksi indol (Kovac)
13. Nutrient Broth (NB)
14. Blood Agar

B. Cara Pengambilan Sampel Air Minum Isi Ulang

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah air minum isi ulang yang diambil dari 8 (delapan) depot air minum di 6 (enam) Kelurahan Kecamatan Medan Johor. Berikut cara pengambilan sampel air minum :

1. Persiapkan alat tulis untuk membuat tanda atau menulis nama jenis sampel air minum isi ulang yang ingin diteliti.
2. Sampel air minum di ambil masing – masing sebanyak 1,5 liter per galon pada setiap depot air isi ulang dengan menggunakan gelas takar yang sudah disterilkan.
3. Kemudian sampel air minum dimasukkan kedalam botol kaca steril.
4. Masukkan sampel kedalam cool box yang berisi ice pack dengan kondisi suhu stabil untuk dibawa ke Laboratorium di hari yang sama.

C. Pemeriksaan Laboratorium

Menggunakan delapan (delapan) labu Erlenmeyer steril, metode MPN digunakan untuk memeriksa mikroorganisme *Escherichia coli*. Sepuluh mililiter bahan ditempatkan ke dalam setiap Erlenmeyer dan diberi kode (A, B, C, D, E, F, G, H). Untuk membuat suspensi, 90 mililiter Buffered Pepton Water (BPW) kemudian ditambahkan dan dihomogenkan. Tindakan selanjutnya adalah melakukan uji prediksi..

1. Untuk melakukan uji dugaan, delapan tabung Durham yang masing-masing berisi sepuluh mililiter media Lactose Broth (LB). Suspensi sampel yang dihomogenkan kemudian ditambahkan dalam 10 mililiter. Empat sampel yang tersisa (sampel B, C, D, E, G dan H) menjalani prosedur yang sama dan diinkubasi selama dua puluh empat jam pada suhu antara 28 dan 35 ° C. Produksi gas menandakan uji yang berhasil. Diasumsikan bahwa bakteri koliform ada dalam tabung yang diuji positif.

2. Pemeriksaan verifikasi menyiapkan tabung reaksi dengan hingga dua rangkaian tabung Durham yang sudah diisi dengan media Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLB). Jumlah tabung yang menghasilkan hasil positif dalam uji dugaan dikurangi dari jumlah total tabung yang digunakan. Untuk setiap rangkaian, satu loop dicelupkan ke dalam tabung yang berisi media BGLB setelah dicelupkan ke dalam tabung yang menunjukkan uji positif. Untuk mengamati bakteri koliform tinja, seri tabung 1 dikultur selama 24 jam pada suhu 37 derajat. Bakteri koliform non-feses diamati setelah 24 jam inkubasi pada suhu 44°C dalam tabung Seri 2. Setiap tabung reaksi menunjukkan tanda-tanda terbentuknya gelembung gas dalam tabung Durham.

3. Pemeriksaan pelengkap Media MacConkey Agar dibuat dalam cawan petri. Tabung reaksi yang berisi hasil positif dari uji konfirmasi setiap seri pada uji sebelumnya digunakan untuk mencelupkan kawat ose ke dalamnya. Ose digoreskan pada media Mac-Conkey Agar. Plat uji diinkubasi pada suhu 28–35°C selama sehari penuh. Koloni bakteri yang dihasilkan diperiksa, dan dibuat catatan mengenai sifat-sifatnya. Koloni bulat berdiameter 2-3 mm dengan warna merah tua dianggap positif (+) untuk *E. coli*.

4. Identifikasi dan Konfirmasi

a Uji Indol

Slant agar Sulfide Indol Mortility (SIM) ditusuk untuk memungkinkan koloni bakteri yang terbentuk pada media Mac-Conkey Agar (MCA) disuntikkan. Proses ini diulang untuk semua sampel yang teruji positif pada media MacConkey Agar. Kultur diinkubasi selama 24 hingga 48 jam pada suhu 28 hingga 35°C. Setelah masa inkubasi, 1 mililiter reagen Indol (Kovac) ditambahkan ke kultur, diaduk, dan didiamkan sebentar sebelum perubahan warna terlihat. Permukaan kultur memiliki warna merah ceri yang membentuk cincin; ini menunjukkan respons indol positif.

b Uji reaksi biokimia

Produksi asam, gas, dan H₂S merupakan ciri khas reaksi biokimia. Koloni bakteri yang tumbuh pada media Mac-Conkey Agar (MCA) disuntikkan pada media miring Triple Sugar Iron Agar (TSIA) dengan cara menggores permukaan dan menusuk media agar miring. Semua sampel yang menunjukkan hasil uji positif pada media MacConkey menjalani perlakuan yang sama. Selama 24 hingga 48 jam, kultur diinkubasi pada suhu antara 28

dan 35 °C. Terlihat bahwa media telah berubah warna. Gas Fe dan H₂S diproduksi oleh koloni bakteri dengan adanya endapan hitam dan retakan media.

c Uji Sitrat

Dengan menggores permukaan media miring, koloni bakteri yang tumbuh pada media Mac-Conkey Agar (MCA) dipindahkan ke media miring Simmons Citrate Agar (SCA) untuk inokulasi. Semua sampel yang menunjukkan hasil uji positif pada media MacConkey menjalani perlakuan yang sama. Selama 24 hingga 48 jam, kultur diinkubasi pada suhu antara 28 dan 35 °C. Terlihat bahwa media telah berubah warna. Escherichia coli ditunjukkan dengan perubahan warna dari hijau menjadi biru (+) atau (-) tergantung pada apakah ada perubahan warna atau tidak..

3.5.2 Kuisisioner

Kuisisioner dalam penelitian ini berisikan daftar pertanyaan tentang personal hygiene petugas depot air minum isi ulang sebanyak 7 pertanyaan yang sesuai dengan kuisisioner inspeksi Permenkes Nomor 43 Tahun 2014 Tentang Higiene Sanitasi Depot Air Minum.

UNIVERSITAS NEGERI MEDAN
SUMATERA UTARA MEDAN

3.6 Defenisi Operasional

Tabel 3. 1 Defenisi Operasional

No	Uraian	Definisi Operasional	Cara Ukur	Kategori	Skala
<u>Variabel Dependen</u>					
1.	Kandungan <i>Escherichia Coli</i>	<i>E.Coli</i> adalah prokariota, satu kelompok organisme terkecil dan paling umum yang ada	Uji <i>Escherichia Coli</i>	1. Memenuhi syarat apabila 0 dari 100 ml sampel (negatif) 2. Tidak memenuhi syarat apabila >0 dalam 100 ml sampel (positif)	Nominal
<u>Variabel Independen</u>					
<u>Personal Hygiene</u>					
1.	Higiene untuk memelihara kebersihan dan kesehatan seseorang untuk kesejahteraan fisik dan psikis	tindakan perorangan	Observasi dan Lembar kuesioner	1. tidak memenuhi syarat <100%. 2. memenuhi syarat : skor $\geq 100\%$.	Nominal

3.6 Analisis Data

3.6.1 Analisis Univariat

Metode deskriptif analisis data meliputi pengumpulan informasi tentang jumlah bakteri *E. Coli* yang teridentifikasi dalam sampel air minum yang dievaluasi dari depot air minum isi ulang serta praktik higiene perorangan petugas yang bekerja di depot tersebut di Kecamatan Medan Johor. Sesuai dengan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 43 Tahun 2014, yang menggantikan Peraturan Menteri Kesehatan No. 492/MENKES/PER/IV/2010 tentang Persyaratan Kualitas

Air Minum, data hasil pemeriksaan *Escherichia coli* di laboratorium akan diolah dan kemudian disajikan dalam bentuk tabel.

