

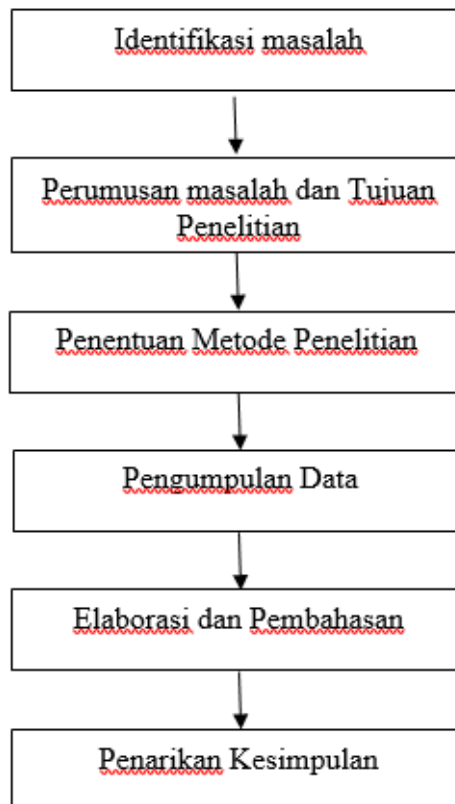
BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan merupakan penelitian yang bersifat deskriptif, yaitu penelitian dengan cara mendeskripsikan atau menggambarkan suatu kejadian atau fenomena yang terjadi dalam masyarakat (Notoatmodjo, 2012). Tujuan dari jenis penelitian ini adalah untuk mengetahui kualitas mikrobiologis sumber mata air di Desa Nyitdah Kediri Tabanan.

B. Alur Penelitian



Gambar 2. Bagan Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat Penelitian

Lokasi pengambilan sampel penelitian dilaksanakan di Desa Nyitdah, Kecamatan Kediri, Kabupaten Tabanan. Pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Panureksa Utama di Jalan Genetri No. 11 Tonja Kecamatan Denpasar Utara.

2. Waktu Penelitian

Waktu pengambilan sampel dan pemeriksaan laboratorium untuk penelitian dilaksanakan pada bulan April - Mei 2022

D. Sampel Penelitian

1. Unit Analisis Sampel

Unit analisis dalam penelitian ini adalah kualitas mikrobiologi pada tujuh sumber mata air yang ada di Desa Nyitdah, Kecamatan Kediri, Kabupaten Tabanan. Uji kualitas mikrobiologi terdiri atas kandungan Coliform dan *Escherichia coli*.

2. Besar Sampel Penelitian

Besar sampel yang digunakan penelitian ini adalah total seluruh populasi yang dianalisis yaitu 7 sampel sumber mata air di Desa Nyitdah, Kecamatan Kediri, Kabupaten Tabanan. Dan akan direplikasi sebanyak 2 kali jadi besar sampel yang dianalisis 14 sampel.

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

Jenis data yang dikumpulkan jenis data yang dikumpulkan dalam penelitian ini berupa data primer dan sekunder. Adapun data yang dimaksud adalah:

a. Data Primer

Data primer adalah data yang didapatkan dengan cara melakukan pengumpulan dan pengolahan data sendiri. Dalam penelitian ini data primer yang diperoleh yaitu nilai kandungan MPN dari 7 sumber mata air yang ada di Desa Nyitdah, Kecamatan Kediri, Kabupaten Tabanan.

b. Data Sekunder

Data sekunder yang digunakan dalam penelitian ini adalah data yang sudah ada yang bisa bersumber dari kajian buku, jurnal, penelitian sebelumnya serta data-data lainnya yang bersumber dari lokasi penelitian seperti jumlah sumber mata air. Data-data tersebut dijadikan sebagai data pendukung dalam penelitian ini.

3. Teknik Sampling

Dalam penelitian ini teknik sampling yang digunakan adalah non probability sampling dengan menggunakan teknik sampling jenuh yaitu teknik penentuan sampel apabila seluruh anggota populasi digunakan sebagai sampel. Pada penelitian dengan jumlah populasi relatif kecil (kurang dari 30) dapat menggunakan teknik tersebut. Teknik sampling jenuh disebut juga dengan istilah sensus dimana seluruh anggota populasi dijadikan sampel (Nasir, Muhith dan Ideputri, 2011).

2. Cara Pengumpulan Data

Cara pengumpulan data yang dilakukan dalam penelitian ini adalah dengan uji laboratorium. Pengukuran kualitas mikrobiologi dilakukan dengan menggunakan metode MPN (Most Probable Number). Perhitungan metode MPN didasarkan pada tabung yang positif, yaitu tabung menunjukkan pertumbuhan mikroba

setelah inkubasi pada suhu dan waktu tertentu, hasil positif dapat diketahui dari gelembung gas yang dihasilkan pada tabung Durham. Nilai MPN ditentukan dengan kombinasi jumlah tabung positif (asam dan gas) tiap serinya setelah diinkubasi. Pemeriksaan MPN adalah salah satu metode untuk analisis kandungan bakteri Coliform dan *Escherichia coli*. Pemeriksaan ini dilakukan dengan 2 tahapan yaitu uji praduga (presumptive test), dan uji penegasan (confirmative test) dengan menggunakan ragam atau seri 555

3. Instrumen Pengumpulan Data

Dalam penelitian ini yang digunakan sebagai instrumen pengumpul data adalah formulir identitas sampel, kamera, alat tulis, dan instrumen laboratorium.

F. Alat, Bahan, dan Prosedur Kerja

1. Alat

Alat Botol steril, biuret, Erlenmeyer, pipet ukur 1 ml, pipet ukur 10 ml, ball pipet, gelas ukur 250 ml, beaker glass 500 ml, lampu spiritus, tabung reaksi, tabung Durham, rak tabung reaksi, ose, inkubator, oven, autoclave, neraca analitik, kaca arloji, cool box, spatula besi, pipet tetes dan korek api.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel air dari 7 sumber mata air yang ada di Desa Nyitdah, Kecamatan Kediri, Kabupaten Tabanan. Bahan-bahan kimia, aquadest, media Lactose Broth Single Strength, media Lactose Broth Double Strength, media Brilliant Green Lactose Bile Broth, dan label

3. Prosedur kerja

1. Pre analitik

Pengambilan sampel

Prosedur pengambilan sampel berdasarkan langkah kerja sebagai berikut (Sunarti, 2015):

- a) Disiapkan wadah penampung sampel, botol steril berukuran 250 ml yang telah dibungkus dengan aluminium foil dan diikat dengan karet.
- b) Buka karet pengikat dan pembungkus botol.
- c) Buka tutup botol, kemudian air dari pancuran ditampung hingga 3/4 bagian botol. (dengan menyisakan udara diatasnya) dengan maksud agar air dapat dikocok sebelum dianalisa.
- d) Setelah botol terisi air, tutup kembali botol, bungkus dengan kertas pembungkus dan ikat dengan karet pada bagian leher botol tersebut, kemudian diberi label yang berisi nomer sampel.
- e) Sampel dimasukkan kedalam cool box, dan selanjutnya dikirim ke laboratorium untuk diperiksa. Jika proses pemeriksaan ditunda maka sampel bisa disimpan pada kulkas selama kurang dari 24 jam.

Pemeriksaan kualitas mikrobiologi

- a) Pembuatan media uji *Most Probable Number* (MPN)
 - 1) pembuatan media LBSS (*Lactose Broth Single Strength*)
 - a) Bubuk media LB (*Lactose Broth*) ditimbang sebanyak 5,85 gram pada neraca analitik.
 - b) Setelah proses penimbangan, bubuk media dipindahkan ke dalam Erlenmeyer dan dilarutkan dengan 450 ml aquades.
 - c) Larutan kemudian dihomogenkan hingga tercampur rata.

- d) Media yang telah homogen kemudian dipipet sebanyak 10 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah berisi tabung durham yang terbalik.
 - e) Tabung reaksi kemudian ditutup dengan tutup karet tabung reaksi.
 - f) Beberapa tabung disatukan dan dibungkus dengan kertas buram dan diikat dengan karet/tali.
 - g) Media kemudian disterilisasi di dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit (waktu dihitung setelah suhu 121°C tercapai).
- 2) Pembuatan media LBDS (*Lactose Broth Double Strength*)
- a) Bubuk media LB (*Lactose Broth*) ditimbang sebanyak 18,6 gram pada neraca analitik.
 - b) Setelah proses penimbangan, bubuk media dipindahkan ke dalam Erlenmeyer dan dilarutkan dengan 1100 ml aquades.
 - c) Larutan kemudian dihomogenkan hingga tercampur rata.
 - d) Media yang telah homogen kemudian dipipet sebanyak 10 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah berisi tabung durham yang terbalik.
 - e) Tabung reaksi kemudian ditutup dengan tutup karet tabung reaksi.
 - f) Beberapa tabung disatukan dan dibungkus dengan kertas buram dan diikat dengan karet/tali.
 - g) Media kemudian disterilisasi di dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit (waktu dihitung setelah suhu 121°C tercapai).
- 1) Pembuatan media BGLB (*Briliant Green Lactose Bile Broth*)
- a) Bubuk media BGLB (*Briliant Green Lactose Bile Broth*) ditimbang sebanyak 120 gram pada neraca analitik.

- b) Setelah proses penimbangan, bubuk media dipindahkan ke dalam Erlenmeyer dan dilarutkan dengan 3000 ml aquades.
- c) Larutan kemudian dihomogenkan hingga tercampur rata.
- d) Media yang telah homogen kemudian dipipet sebanyak 10 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah berisi tabung durham yang terbalik.
- e) Tabung reaksi kemudian ditutup dengan tutup karet tabung reaksi.
- f) Beberapa tabung disatukan dan dibungkus dengan kertas buram dan diikat dengan karet/tali.
- g) Media kemudian disterilisasi di dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit (waktu dihitung setelah suhu 121°C tercapai).

2. Analitik

Pada uji ini digunakan uji MPN dengan ragam 555. Prosedur uji dilakukan berdasarkan langkah sebagai berikut:

- 1) Uji pendahuluan (presumtif tes)
 - a) Disiapkan 5 tabung yang masing-masing berisi media LB double strength sebanyak 10 ml (diberi label 1a s/d 5a)
 - b) Disiapkan 5 tabung yang masing-masing berisi media LB single strength sebanyak 10 ml (diberi label 1b s/d 5b)
 - c) Disiapkan 5 tabung yang masing-masing berisi media LB single strength sebanyak 10 ml (diberi label 1c s/d 5c)
 - d) Dipipet 10 ml sampel air dengan pipet steril dan dimasukkan ke dalam tabung 1a s/d 5a
 - e) Dipipet 1 ml sampel air dengan pipet steril dan dimasukkan ke dalam tabung 1b s/d 5b

- f) Dipipet 0,1 ml sampel dengan pipet steril dan dimasukkan ke dalam tabung 100 ml s/d 50 ml
 - g) Tabung kemudian dikocok perlahan agar sampel air menyebar merata keseluruh bagian media.
 - h) Diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 - 48 jam. Jika setelah 24 jam tidak terbentuk hasil positif maka proses inkubasi diperpanjang menjadi 48 jam.
 - i) Diamati apakah terbentuk gas pada tabung durham, jika hasil positif (terbentuk gas pada tabung durham) menunjukkan presumptif test positif, maka uji dilanjutkan ke tahap penegasan.
- 2) Uji penegasan (confirmatif tes)
- a) Dari setiap tabung yang positif pada uji pendugaan dipindahkan 1-2 ose ke tabung uji penegasan yang berisi 10 ml media BGLB. Dari 1 tabung yang positif pada uji penduga diinokulasikan ke dalam 2 tabung (seri) media BGLB.
 - b) Satu tabung diinkubasi pada suhu 37°C (untuk memastikan adanya *Coliform*) dan satu seri lainnya diinkubasi pada suhu 44°C (untuk memastikan adanya *Escherichia coli*). Proses inkubasi dilakukan selama 24 jam. Jika setelah 24 jam tidak terbentuk hasil positif maka proses inkubasi diperpanjang menjadi 48 jam.
 - c) Diamati apakah terbentuk gas pada tabung durham yang menandakan hasil positif.

3) Post Analitik

Pembacaan hasil

Jumlah tabung yang positif pada uji penegasan (media BGLB) dicatat dan angka yang diperoleh dicocokkan dengan tabel MPN ragam 555, maka akan diperoleh indeks MPN *Coliform* untuk tabung yang positif pada inkubasi suhu 37°C. Dan indeks MPN *Escherichia coli* untuk tabung yang positif pada inkubasi suhu 44°C.

Hasil perhitungan jumlah *Coliform* dan *Escherichia coli* dikelompokkan/dikategorikan menjadi 2 berdasarkan Permenkes No. 32 Tahun 2017 dimana dikatakan memenuhi syarat apabila hasil perhitungan jumlah *Coliform* 50/100 ml dan *Escherichia coli* 0/100 ml

G. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan data

Pengolahan data dilakukan dengan cara pemeriksaan sampel di laboratorium. Semua data yang terkumpul dari hasil uji kualitas mikrobiologi sumber mata air di Desa Nyitdah, Kecamatan Kediri, Kabupaten Tabanan, yaitu berupa nilai MPN dari 7 sampel mata air yang diperiksa yang dinyatakan dalam satuan per 100 ml sampel (Nilai MPN/100 ml). Pada penelitian ini data yang diperoleh dari hasil pemeriksaan dan pengamatan disajikan dalam bentuk tabel kemudian dibahas secara narasi.

2. Analisis data

Analisis data Analisis data dilakukan dengan metode deskriptif yaitu dengan menampilkan nilai/indeks MPN bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* yang terdapat pada 7 sampel sumber mata air yang ada di Desa Nyitdah, Kecamatan Kediri, Kabupaten Tabanan yang kemudian dibandingkan dengan persyaratan kualitas mikrobiologi untuk air bersih dari Permenkes RI No. 32 Tahun 2017. Air

bersih yang dinyatakan memenuhi syarat bakteriologis apabila jumlah bakteri *Coliform* 50/ 100 ml sampel air dan *Escherichia coli* 0/100 ml sampel air.