

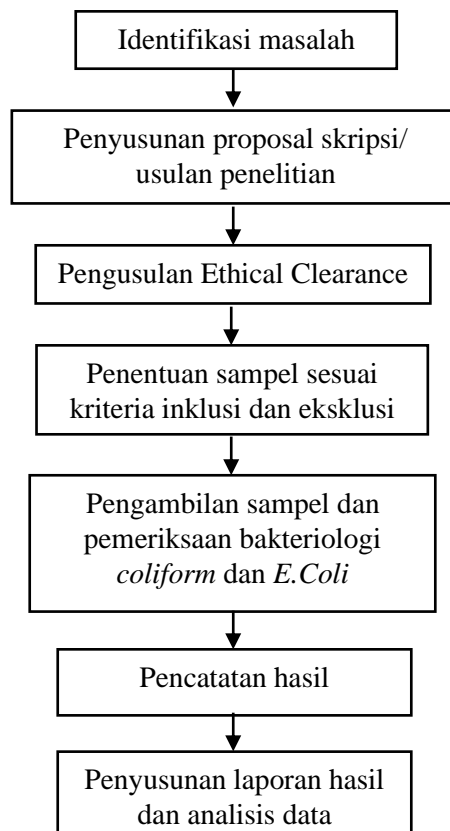
BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian kuantitatif dengan design eksperimen semu (quasi eksperimen) dan menggunakan pendekatan komparatif yaitu untuk mengetahui efektivitas sterilisasi air minum isi ulang menggunakan sinar ultraviolet terhadap jumlah *coliform* total dan *Escherichia coli* pada depo air minum isi ulang (DAMIU) di Kabupaten Tabanan

B. Alur Penelitian



Gambar 2. Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

- a. Lokasi pengambilan sampel dilakukan pada depo air minum isi ulang di Kabupaten Tabanan.
- b. Penelitian efektivitas sterilisasi air minum isi ulang menggunakan sinar ultraviolet terhadap jumlah *coliform* total dan *Escherichia coli* pada depo air minum isi ulang (DAMIU) di Kabupaten Tabanan dilakukan di UPTD Laboratorium Kesehatan Daerah dan Kalibrasi Kabupaten Tabanan.

2. Waktu penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juli – Oktober 2025.

D. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi penelitian

Menurut Sugiyono (2018), populasi merupakan keseluruhan elemen, baik subjek maupun objek, yang memiliki karakteristik tertentu dan menjadi pusat perhatian dalam suatu penelitian untuk dianalisis serta dijadikan dasar penarikan kesimpulan. Populasi dalam penelitian ini adalah 67 depo air minum isi ulang di Kabupaten Tabanan.

2. Sampel penelitian

Sampel dalam penelitian adalah sebagian dari populasi yang dipilih sebagai sumber data dan dianggap mampu mewakili keseluruhan populasi. Penggunaan sampel menjadi solusi ketika penelitian terhadap seluruh anggota populasi tidak memungkinkan dilakukan karena keterbatasan waktu, biaya, dan sumber daya. Oleh karena itu, pemilihan sampel yang tepat sangat krusial

agar hasil penelitian dapat digeneralisasi secara valid terhadap populasi secara keseluruhan (Sugiyono, 2018).

a. Unit analisis

Penelitian ini menggunakan unit analisis yaitu total angka MPN dari pemeriksaan bakteriologi air minum isi ulang sebelum dan sesudah sterilisasi menggunakan sinar ultraviolet dengan Metode MPN di Kabupaten Tabanan.

b. Besar sampel

Sampel adalah bagian dari populasi yang diharapkan mampu menggambarkan ciri-ciri populasi secara keseluruhan dalam sebuah penelitian. Untuk menetapkan jumlah sampel yang sesuai dari populasi tertentu, peneliti dapat menggunakan formula yang dirumuskan oleh Slovin yaitu sebagai berikut :

$$\text{Rumus : } n = \frac{N}{1+(N \times e^2)}$$

Keterangan :

n = Besaran sampel

N = Jumlah populasi

e = Error Level (tingkat kesalahan 15 %)

$$n = \frac{67}{1+67 (0,15)^2}$$

$$n = \frac{67}{1+67 (0,0225)}$$

$$n = \frac{67}{1 + 1,5075}$$

$$n = \frac{67}{2,5075}$$

$$n = 26,72 \text{ } n = 27 \text{ sampel}$$

Hasil perhitungan jumlah sampel menggunakan rumus Slovin menunjukkan bahwa diperlukan sebanyak 27 sampel air minum isi ulang untuk keperluan penelitian ini

c. Teknik pengambilan sampel

Teknik sampling merupakan metode untuk menentukan sejumlah sampel dari populasi dengan mempertimbangkan karakteristik dan distribusi populasi, sehingga diperoleh sampel yang representatif (Hardani dkk., 2020). Dalam penelitian ini digunakan teknik Simple Random Sampling, yaitu metode pengambilan sampel secara acak dari seluruh anggota populasi tanpa mempertimbangkan strata atau tingkatan tertentu dalam populasi tersebut (Sugiyono, 2017).

d. Kriteria sampel

1) Kriteria inklusi

Kriteria inklusi merupakan ketentuan yang menentukan bahwa subjek penelitian memenuhi syarat untuk dimasukkan sebagai bagian dari sampel karena dianggap dapat mewakili populasi yang diteliti. Kriteria inklusi pada penelitian adalah :

- a) Depot air minum isi ulang yang berada di wilayah Kabupaten Tabanan.
- b) Depot yang menggunakan sistem sterilisasi sinar UV dengan pengolahan air yang seragam dan dari sumber air yang sama.
- c) Depot yang memiliki aliran proses air yang memungkinkan pengambilan sampel sebelum dan sesudah sterilisasi.
- d) Depot yang masih aktif beroperasi pada saat pelaksanaan penelitian.

2) Kriteria eksklusi

Kriteria eksklusi adalah ketentuan yang digunakan untuk menolak subjek tertentu dari sampel penelitian karena tidak memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan, sehingga tidak dapat mewakili populasi yang diteliti. Kriteria eksklusi pada penelitian adalah :

- a) Depot air minum isi ulang yang tidak menggunakan sistem sterilisasi sinar ultraviolet (UV).
- b) Depot yang tidak memungkinkan pengambilan sampel pada dua titik (sebelum dan sesudah sterilisasi).
- c) Depot yang sedang tidak aktif atau dalam proses perbaikan saat waktu pengumpulan data.
- d) Depot dengan sistem sterilisasi UV yang rusak atau tidak berfungsi optimal pada saat penelitian.

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

a. Data primer

Data primer merupakan data yang diperoleh secara langsung oleh peneliti dari sumber pertama melalui proses pengumpulan data di lapangan (Hardani dkk, 2020). Data primer dalam penelitian ini adalah hasil pemeriksaan laboratorium jumlah *coliform* total dan *Escherichia coli* pada air minum isi ulang sebelum dan sesudah sterilisasi menggunakan sinar ultraviolet di Kabupaten Tabanan.

b. Data sekunder

Data sekunder merupakan data yang telah tersedia sebelumnya dan diperoleh dari sumber-sumber tertulis, seperti dokumen resmi pemerintah,

laporan institusi, atau literatur yang tersedia di perpustakaan (Hardani dkk, 2020). Sumber data sekunder dalam penelitian ini meliputi referensi tertulis seperti buku, makalah ilmiah, arsip, serta jurnal penelitian yang berkaitan dengan bakteriologi pada air minum isi ulang, baik sebelum maupun sesudah proses sterilisasi menggunakan sinar ultraviolet.

2. Cara pengumpulan data

Cara pengumpulan data dalam penelitian yaitu pemeriksaan laboratorium untuk menentukan perbandingan jumlah *coliform* total dan *Escherichia coli* pada air minum isi ulang sebelum dan sesudah sterilisasi menggunakan sinar ultraviolet di Kabupaten Tabanan.

3. Instrumen pengumpulan data

a. Alat

- 1) PC/Laptop untuk sarana pembuatan laporan.
- 2) Alat tulis untuk mencatat hasil penelitian.
- 3) Kamera untuk proses dokumentasi
- 4) Botol steril, *autoclave*, cool box, bunsen, tabung durham, ose jarum, ose bulat, kompor elektrik, erlenmeyer, pipet volume, tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas beaker, kapas steril, batang pengaduk neraca analitik dan *hot plate*.

b. Bahan

- 1) Sampel air minum isi ulang sebelum dan sesudah sterilisasi, media (LBSS) *lactose broth single strength*, (LBDS) *lactose broth double strength*, media (BGLB) *briliant green lactose bile broth*, *aquadest*.

2) Label untuk pemberian identitas sampel.

c. Prosedur Kerja

Menurut Badan Standardisasi Nasional (2021), prosedur kerja yang digunakan dalam pengujian air dengan metode *Most Probable Number* (MPN) yaitu:

1) Pra Analitik

a) Dilakukan persiapan pengambilan sampel dengan melakukan fiksasi botol steril terlebih dahulu dengan memanaskannya di atas nyala api spiritus.

b) Sebelum pengambilan, aliran sampel air dibiarkan mengalir selama 30 detik. Setelah itu, mulut botol steril difiksasi terlebih dahulu menggunakan api spiritus, kemudian sampel air dimasukkan ke dalam botol steril hingga mencapai $\frac{3}{4}$ bagian volume botol.

c) Setelah sampel dimasukkan, mulut botol steril difiksasi kembali dengan menggunakan nyala api spiritus. Selanjutnya, botol steril ditutup kembali menggunakan kapas berlemak, kemudian sampel disimpan di dalam *cool box* untuk menjaga suhu dan kualitasnya.

d) Pembuatan media *Briliant Green Lactose Bile Broth* (BGLBB)

(1) Ditimbang bubuk media *brilliant green lactose bile broth* (BGLBB) dengan menggunakan neraca analitik untuk memperoleh takaran yang tepat. Kemudian, dipindahkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan menggunakan *aquadest* lalu homogenkan.

(2) Media yang telah homogen kemudian dipipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah dilengkapi dengan tabung Durham dalam posisi terbalik .

- (3) Ditutup tabung reaksi kemudian dengan kapas berlemak kemudian dibungkus dengan menggunakan *aluminium foil*.
 - (4) Media di dalam beberapa tabung disatukan kemudian dibungkus dengan kertas buram, diikat, kemudian disterilisasi di *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit.
- e) Pembuatan media *Lactose Broth Single Strength* (LBSS)
- (1) Ditimbang bubuk media *lactose broth single strength* (LBSS) dengan neraca analitik.
 - (2) Bubuk media dipindahkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan *aquades* lalu homogenkan.
 - (3) Media yang telah homogen kemudian dipipet dan dituangkan ke dalam tabung reaksi yang telah diisi tabung durham dengan posisi terbalik.
 - (4) Tabung reaksi ditutup menggunakan kapas berlemak kemudian dibungkus dengan *aluminium foil*.
 - (5) Media di dalam beberapa tabung disatukan kemudian dibungkus dengan kertas buram, diikat, kemudian disterilisasi di *autoclave* pada suhu 121 0C selama 15 menit.tercapai).
- f) Pembuatan media *Lactose Broth Double Strength* (LBDS)
- (1) Ditimbang bubuk media *Lactose Broth Double Strength* (LBDS) dengan neraca analitik. Setelah proses penimbangan, bubuk media dipindahkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan *aquadest* lalu homogenkan.
 - (2) Media yang telah homogen kemudian dipipet dan dituangkan ke dalam tabung reaksi yang telah diisi tabung durham dengan posisi terbalik.
 - (3) Tabung reaksi ditutup menggunakan kapas berlemak kemudian dibungkus dengan *aluminium foil*.

- (4) Media di dalam beberapa tabung disatukan kemudian dibungkus dengan kertas buram, diikat, kemudian disterilisasi di autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit.
- 2) Analitik
 - a) Uji pendahuluan (*Presumptive test*)
 - (1) Media LBSS dan LBDS disiapkan sesuai variasi metode MPN.
 - (2) Dimasukkan 10 ml sampel pada masing-masing tabung yang berisi LBDS sesuai variasi MPN, kemudian tabung yang berisi media LBSS dimasukkan 1 ml sampel pada satu tabung dan 0,1 ml pada tabung sisanya.
 - (3) Diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Hasil positif ditandai dengan terbentuk gas dalam tabung durham.
 - b) Uji penegasan (*Confirmatif test*)
 - (1) Disiapkan media BGLB sesuai jumlah tabung yang positif pada uji penduga.
 - (2) Dimasukkan 1 ose dari tabung positif uji penduga, inokulasikan ke media BGLB
 - (3) Diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Hasil positif ditandai dengan terbentuk gas dalam tabung durham.
 - (4) Hasil kemudian dibaca dengan mencocokkan pada tabel MPN 5-1-1.
 - c) Uji pelengkap (*Complete test*)
 - (1) Dipindahkan 1-2 ose dari setiap tabung yang positif pada uji penegasan ke tabung uji pelengkap yang berisi media BGLB.
 - (2) Diinkubasi satu tabung pada suhu 37°C (untuk melihat adanya *coliform*) dan satu tabung lainnya diinkubasi pada suhu 44°C (untuk melihat adanya *Escherichia coli*). Diinkubasi selama 24 jam. Apabila setelah 24 jam inkubasi tidak terlihat hasil positif, maka proses inkubasi dilanjutkan hingga mencapai

48 jam untuk memastikan pertumbuhan bakteri yang mungkin memerlukan waktu lebih lama.

(3) Hasil positif ditentukan berdasarkan adanya pembentukan gas dalam tabung Durham yang menunjukkan aktivitas fermentasi oleh bakteri.

3) Pasca Analitik

a) Pembacaan hasil

Pembacaan hasil uji pelengkap dilakukan dengan menghitung jumlah tabung yang menunjukkan pembentukan gas, baik pada inkubasi suhu 37°C maupun 44°C. Jumlah tabung positif tersebut kemudian dicocokkan dengan tabel MPN untuk memperoleh nilai indeks MPN total coliform (pada inkubasi 37°C) dan indeks MPN *Escherichia coli* (pada inkubasi 44°C).

b) Pengolahan limbah

Proses pengolahan limbah cair hasil pengujian diolah menggunakan Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL). Limbah akan masuk ke unit biofilter, di mana mikroorganisme *anaerob* dan *aerob* berperan dalam mengurai kontaminan secara biologis. Metode dengan IPAL bersifat ramah lingkungan dan hemat energi. Eluen yang sudah melalui tahapan di IPAL, dilepas ke lingkungan dengan kualitas yang lebih aman.

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Teknik pengolahan data

Informasi yang dikumpulkan melalui pengujian dan pengamatan dianalisis menggunakan metode tabulasi, yakni penyajian data dalam format tabel yang disertai uraian deskriptif.

2. Analisis data

Metode analisis data dalam penelitian ini dilakukan dengan cara menyusun hasil pemeriksaan air minum isi ulang sebelum dan sesudah proses sterilisasi menggunakan sinar ultraviolet ke dalam bentuk tabulasi. Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis dengan menghitung nilai rata-rata (*mean*). Sebelum dilakukan uji statistik, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas untuk mengetahui distribusi data. Apabila data berdistribusi normal, maka digunakan uji *Paired T-Test*, sedangkan jika data tidak berdistribusi normal, analisis dilanjutkan menggunakan uji *Wilcoxon*. Kesimpulan diambil berdasarkan nilai signifikansi (Sig.). Jika nilai Sig. < 0,05, maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok data yang diuji.

3. Etika Penelitian

Secara etimologis, istilah 'etika' berasal dari bahasa Yunani, yaitu *ethos* dalam bentuk tunggal, yang memiliki berbagai makna seperti tempat tinggal, padang rumput, kandang, kebiasaan, adat, akhlak, watak, perasaan, sikap, atau cara berpikir. Dalam bentuk jamak, *ta etha*, istilah ini merujuk pada kebiasaan atau adat istiadat. Makna terakhir inilah yang melatarbelakangi lahirnya istilah 'etika' yang telah digunakan oleh filsuf besar Yunani, Aristoteles, untuk menggambarkan filsafat moral. Dengan demikian, etika dapat diartikan sebagai ilmu yang mempelajari kebiasaan atau perilaku yang lazim dilakukan. Dalam konteks penelitian kesehatan yang melibatkan manusia sebagai subjek, pelaksanaan penelitian harus berlandaskan pada tiga prinsip etik utama berikut (Haryani, W dan Setyobroto, I, 2022) :

1. *Respect for persons (other)*

Tujuan dari prinsip ini adalah untuk menghormati otonomi individu dalam membuat keputusan secara mandiri (*self-determination*), serta memberikan perlindungan terhadap kelompok-kelompok yang bergantung (*dependent*) atau rentan (*vulnerable*) dari potensi penyalahgunaan dan tindakan yang merugikan (*harm and abuse*).

2. *Beneficence and non maleficence*

Prinsip beneficence menekankan pada kewajiban untuk berbuat baik, yaitu dengan memaksimalkan manfaat yang dapat diperoleh subjek penelitian serta meminimalkan potensi risiko atau kerugian yang mungkin timbul.

3. Prinsip etika keadilan (*Justice*)

Prinsip keadilan menekankan bahwa setiap individu berhak memperoleh perlakuan yang setara sesuai dengan haknya, mencakup aspek keadilan distributif serta pembagian sumber daya atau manfaat secara adil dan seimbang (*equitable*).