

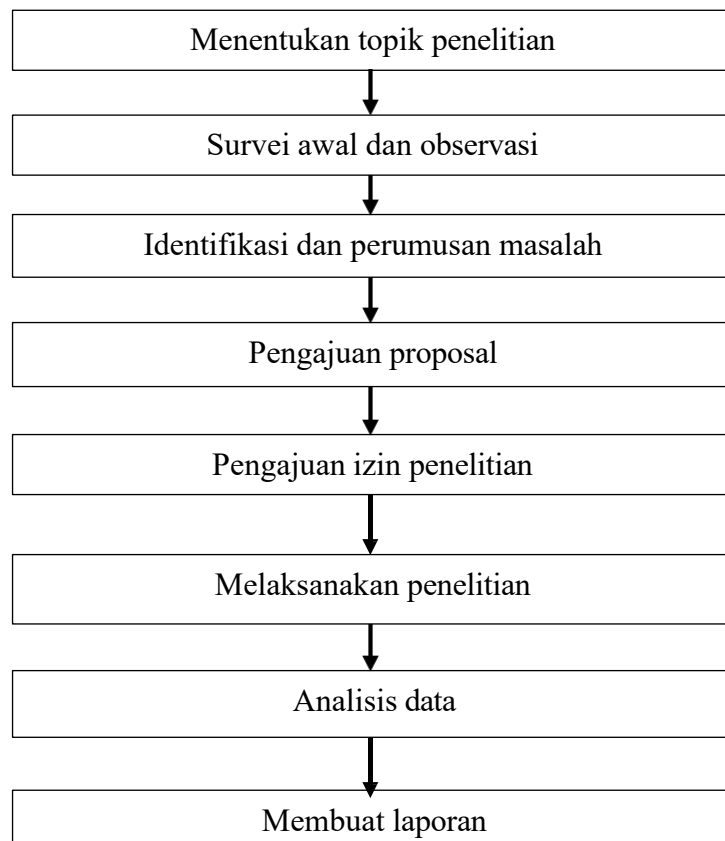
BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif dengan rancangan deskriptif. Penelitian deskriptif adalah penelitian yang bertujuan menggambarkan gejala fakta atau kondisi suatu populasi secara sistematis dan akurat tanpa mencari hubungan antara variable sehingga penelitian ini hanya menyajikan keadaan apa adanya untuk memberikan informasi faktual mengenai karakteristik objek yang diteliti (Hardani dkk., 2020).

B. Alur Penelitian



Gambar 2. Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Lokasi pengambilan sampel dilakukan pada pedagang minuman di Desa Kemenuh, Kecamatan Sukawati, Kabupaten Gianyar dan pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Bakteriologi, Delta Pratama Medika.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan dari bulan Oktober 2025 sampai dengan bulan Maret 2026. Waktu penelitian dilaksanakan mulai dari pengurusan izin, persiapan alat dan bahan, pengumpulan sampel, pemeriksaan laboratorium, analisis data hasil, dan dilanjutkan dengan penyusunan laporan penelitian.

D. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Berdasarkan hasil observasi di lokasi penelitian dan survei pendahuluan dengan pedagang di Desa Kemenuh, Kecamatan Sukawati, Kabupaten Gianyar, didapatkan bahwa populasi penelitian ini adalah 110 pedagang yang menjual es batu di Desa Kemenuh.

2. Sampel

Sampel penelitian ini yaitu es batu yang dijual di Desa Kemenuh, Kecamatan Sukawati, Kabupaten Gianyar berdasarkan kriteria yang telah ditentukan. Dalam pengambilan sampel perlu memperhatikan kriteria inklusi dan eksklusi.

a. Kriteria Inklusi

1. Es batu yang masih dalam kondisi layak ambil.
2. Es batu yang digunakan langsung untuk konsumsi.
3. Es batu yang mendapatkan izin dari pedagang untuk dilakukan pengambilan sampel.

b. Kriteria Eksklusi

Sampel es batu yang terkontaminasi secara sengaja selama proses pengambilan, penyimpanan, atau perlakuan sebelum pemeriksaan laboratorium.

3. Unit Analisis

Unit analisis merupakan suatu bagian yang menjadi fokus penelitian. Unit analisis dalam penelitian ini adalah bakteri *Coliform* yang diidentifikasi dari sampel es batu di Desa kemenuh.

4. Jumlah dan Besar Sampel

Penentuan jumlah sampel dalam penelitian ini menggunakan rumus *Yamane* dikarenakan jumlah populasi diketahui (Sugiyono, 2023) Dalam penelitian ini populasi diketahui sebanyak 110 orang. Dengan tingkat toleransi kesalahan sebesar 15%

$$n = \frac{N}{1 + N(e)^2}$$

Keterangan :

n = Jumlah sampel

N = Jumlah populasi (110)

e = Presentase kesalahan dalam pengambilan sampel (15% = 0.15)

Perhitungan :

$$n = \frac{110}{1 + 110(0,15^2)}$$

$$n = \frac{110}{1 + 110(0,0225)}$$

$$n = \frac{110}{1 + 2,475}$$

$$n = \frac{110}{3475}$$

$$n = 31,65 \quad (\text{dibulatkan oleh peneliti menjadi } 32)$$

Berdasarkan hasil perhitungan maka jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 32 sampel es batu pada pedagang minuman di Desa Kemenuh.

5. Teknik Pengambilan Sampel

Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini menggunakan *stratified proportional random sampling*. Pada metode ini, populasi penjual es batu dikelompokkan terlebih dahulu berdasarkan banjar sebagai strata. Jumlah sampel dari setiap strata ditentukan secara proporsional sesuai dengan jumlah pedagang yang terdapat pada masing-masing banjar. Setelah proporsi sampel ditetapkan, pemilihan sampel dilakukan secara acak (random) di dalam setiap strata untuk memastikan setiap unit memiliki peluang yang sama untuk terpilih sebagai sampel (Fachreza dkk., 2024)

Tabel 2.

Perhitungan Jumlah Sampel per banjar

No	Banjar	Populasi	Perhitungan	Sampel (dibulatkan)
1	Banjar Tengkulak Tengah	10	$10/110 \times 32$	3
2	Banjar Tengkulak Kaja Kangin	12	$12/110 \times 32$	4
3	Banjar Tengkulak Kaje Kauh	8	$8/110 \times 32$	2
4	Banjar Tegenungan	15	$15/110 \times 32$	4
5	Banjar Tengkulak Mas	9	$9/110 \times 32$	3
6	Banjar Sumampun	14	$14/110 \times 32$	4
7	Banjar Medahan	11	$11/110 \times 32$	3
8	Banjar Batu Sepih	7	$7/110 \times 32$	2
9	Banjar Kemenuh Kelod	10	$10/110 \times 32$	3
10	Banjar Kemenuh Induk	8	$8/110 \times 32$	2
11	Banjar Kemenuh Kangin	6	$6/110 \times 32$	2

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data**1. Jenis data yang dikumpulkan****a. Data primer**

Data primer utama pada penelitian ini yaitu kualitas bakteriologis pada es batu di Desa Kemenuh, Kecamatan Sukawati, Kabupaten Gianyar yang berasal dari uji laboratorium pemeriksaan jumlah nilai MPN total bakteri *Coliform* dan data pendukung sanitasi lingkungan, dan personal *Higiene*, yang berasal dari lembar hasil wawancara dan observasi.

b. Data sekunder

Data sekunder pada penelitian ini adalah lokasi penelitian, jumlah pedagang es batu berdasarkan survei pendahuluan, data penemuan penyakit diare

Kabupaten Gianyar pada tahun 2020, serta teori-teori pendukung yang bersumber dari jurnal dan buku di internet.

2. Teknik pengumpulan data

Pengumpulan data penelitian dilakukan secara sistematis berdasarkan dengan prosedur yang berlaku untuk memperoleh data hasil terkait variabel dan tujuan penelitian. Pada penelitian ini menggunakan teknik pengumpulan data, yakni wawancara, observasi dan pemeriksaan laboratorium.

a. Wawancara

Wawancara secara langsung dilakukan antara peneliti dengan pedagang es batu di Desa Kemenuh, Kecamatan Sukawati, Kabupaten Gianyar, pertama peneliti akan menjelaskan mengenai penelitian apa yang akan dilakukan serta tujuan penelitian ini. Kemudian mengisi form wawancara, seperti bertanya mengenai nama, umur, dan lamanya jam kerja pedagang es batu.

b. Observasi

Observasi dilakukan secara langsung oleh peneliti, format observasi es batu di Desa Wisata Kemenuh, Kecamatan Sukawati, Kabupaten Gianyar disusun dan berisi tentang penerapan sanitasi lingkungan yang mencakup lokasi penjualan, peralatan yang digunakan, perlakuan terhadap es batu, dan personal hygiene yang mencakup kebiasaan pedagang dalam berjualan minuman .

c. Pemeriksaan laboratorium

Pemeriksaan laboratorium dilakukan segera setelah pengambilan sampel dengan membeli secara langsung sampel es batu kemudian setiap sampel es batu diberi label dan disimpan di cool box untuk selanjutnya dibawa ke laboratorium untuk di periksa dengan metode MPN.

3. Instrumen penelitian

Pengumpulan data pada penelitian ini menggunakan instrument sebagai berikut.

- a. Lembar wawancara dan observasi, sebagai pedoman untuk melakukan dan mencatat hasil wawancara dan observasi langsung.
- b. Alat tulis, untuk mencatat hasil wawancara dan observasi
- c. Kamera, digunakan untuk mengambil dokumentasi saat kegiatan penelitian langsung.
- d. Peralatan, media, dan bahan pengujian uji *Coliform* di laboratorium

4. Alat, bahan, dan prosedur kerja

- a. Alat

Peralatan yang digunakan dalam pemeriksaan ini meliputi, tabung reaksi kaca berukuran 15×150 mm sebanyak 21 buah, serta tabung Durham kaca berukuran 5×30 mm sebanyak 21 buah. Rak tabung reaksi berbahan stainless steel dengan kapasitas minimal 12 tabung digunakan sebanyak 2 buah. Pipet ukur dengan kapasitas 10 mL, 5 mL, dan 1 mL, masing-masing disediakan sebanyak 3 buah. Pipet Pasteur kaca dengan panjang 150 mm digunakan sebanyak 3 buah. Inkubator dengan rentang suhu $35-37^{\circ}\text{C}$ digunakan sebanyak 1 unit, dan autoklaf bertekanan 121°C pada 15 psi digunakan sebanyak 1 unit. Selain itu, digunakan *biosafety cabinet* (BSC) kelas II tipe *horizontal flow merk Biobase* sebanyak 1 unit untuk menjaga area kerja tetap steril dan aman selama proses inokulasi. Jarum ose berbahan stainless steel dengan diameter 3 mm digunakan sebanyak 1 buah, sedangkan bunsen atau spiritus burner berbahan

stainless steel digunakan sebanyak 1 buah. Sebagai bahan penunjang sterilisasi area kerja, alkohol 70% dan kain steril disediakan masing-masing sebanyak 1 botol.

b. Bahan

Lactose Broth Double Strength, Lactose Broth Single Strength, Brilliant Green Lactose Broth , Akuades , Alkohol 70%.

c. Prosedur Kerja

1) Sterilisasi alat

Air diisi hingga batas yang ditentukan, kemudian bahan yang akan disterilisasi dimasukkan ke dalam keranjang khusus. Setelah itu, autoklaf ditutup dan klep pengaman dikencangkan. Autoklaf dinyalakan, lalu suhu serta waktu sterilisasi diatur 121°C selama 15 menit. Proses sterilisasi dibiarkan berlangsung hingga selesai. Setelah selesai, katup pengaman dibuka agar uap keluar, dan setelah tekanan turun, autoklaf dibuka, kemudian bahan yang telah steril dikeluarkan dengan hati-hati. Alat yang berasal dari bahan kaca dan gelas disterilkan menggunakan oven pada suhu 150°C selama 1- 2 jam (Sebayang dkk, 2025).

2) Pengambilan sampel

Bahan uji yang digunakan adalah es batu dari penjual minuman di Desa Kemenuh, pengambilan sampel dengan membeli secara langsung sampel es batu kemudian setiap sampel es batu diberi label dan disimpan di cool box untuk selanjutnya dibawa ke laboratorium untuk di periksa dengan es batu yang dikumpulkan dari lapangan terlebih dahulu dicairkan, kemudian suspensi hasil lelehan dipindahkan secara aseptik menggunakan pipet steril untuk

menghindari kontaminasi eksternal sebelum dilakukan kultur (A. P. Dewi dan Gusnita, 2019).

3) Pembuatan Media

1. Media LTB (*Lauryl Tryptose Broth*)

Tabung reaksi disiapkan dan disusun dalam rak, kemudian setiap tabung reaksi diberi tabung Durham dalam posisi terbalik dengan mulut tabung menghadap ke bawah. Selanjutnya, media LTB ditimbang sesuai kebutuhan, yaitu 35,6 g per 1000 ml aquades untuk single. Media yang telah ditimbang dilarutkan dalam aquades sesuai komposisi dan diaduk dengan batang pengaduk. Setelah itu, pH media diatur hingga mencapai $6,8 \pm 0,2$. Media yang telah disiapkan kemudian dituangkan ke dalam tabung reaksi yang berisi tabung Durham menggunakan pipet ukur sebanyak 10 ml. Terakhir, tabung reaksi yang telah diisi media ditutup dengan rapat (Sebayang dkk., 2025).

2. Media BGLB (*Brilian Green Lactose Broth*)

Tabung reaksi disiapkan dan disusun dalam rak, kemudian setiap tabung reaksi diberi tabung Durham dalam posisi terbalik dengan mulut tabung menghadap ke bawah. Selanjutnya, media BGLB ditimbang sesuai kebutuhan, yaitu 40 g per 1000 ml aquades steril. Media yang telah ditimbang dilarutkan dalam aquades sesuai komposisi dan diaduk dengan batang pengaduk. Setelah itu, pH media diatur hingga mencapai $6,8 \pm 0,2$. Media yang telah disiapkan kemudian dituangkan ke dalam tabung reaksi yang berisi tabung Durham menggunakan pipet ukur sebanyak 10 ml. Terakhir, tabung reaksi yang telah diisi media ditutup dengan rapat (Sebayang dkk., 2025).

4) Cara kerja

Pengamatan dilaksanakan melalui dua tahap yaitu uji awal (*presumptive test*), uji penegasan (*confirmed test*) yang dilanjutkan dengan penentuan nilai Most Probable Number (MPN).

a. Tahap Pendugaan (*Presumptive test*)

- 1) Menyiapkan media yang berisi tabung Durham pada masing-masing tabung reaksi.
- 2) Menginokulasikan sampel air ke dalam media dengan volume 10 mL (3 tabung), 1 mL (1 tabung), dan 0,1 mL (1 tabung).
- 3) Menginkubasi seluruh tabung pada suhu $35 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam.
- 4) Mengamati terbentuknya gas pada tabung Durham.
- 5) Jika belum terbentuk gas, inkubasi dilanjutkan hingga 48 jam, kemudian dilakukan pengamatan ulang.
- 6) Mencatat tabung yang menunjukkan reaksi positif.

b. Tahap Penegasan (*Confirmed Test*)

- 1) Menyiapkan media penegasan dengan tabung Durham.
- 2) Mengambil inokulum dari tabung positif pada tahap pendugaan menggunakan loop yang telah dipijarkan hingga membara.
- 3) Menginkubasi tabung pada suhu $44,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam.
- 4) Mengamati pembentukan gas pada tabung Durham dan mencatat tabung yang menunjukkan hasil positif.
- 5) Menghitung jumlah tabung yang menunjukkan reaksi positif.

- 6) Membandingkan jumlah tabung positif tersebut dengan tabel Most Probable Number (MPN) untuk memperoleh nilai MPN total *Coliform* dalam sampel (Darma dkk., 2020).

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan data

Teknik pengolahan data yang digunakan pada penelitian ini secara tabulating data, yaitu dengan menyajikan data dalam bentuk table dan kemudian diberi narasi.

2. Analisis data

Data hasil penelitian total *Coliform* dengan metode *Most Probable Number* (MPN) kemudian dibandingkan dengan baku mutu kualitas air menurut Permenkes RI No. 2 Tahun 2023. Selanjutnya data dianalisis secara deskriptif.

G. Etika Penelitian

Adapun etika penelitian menurut Komite Etik Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Nasional Kementerian Kesehatan RI Tahun 2021 yaitu (Kementrian Kesehatan RI, 2021) :

1. Prinsip menghormati harkat martabat manusia (*respect for persons*)

Prinsip ini menekankan bahwa setiap individu memiliki hak untuk menentukan pilihan secara bebas dan bertanggung jawab atas keputusannya. Prinsip ini bertujuan menjunjung tinggi otonomi, yakni kemampuan seseorang untuk memahami dan menetapkan keputusan secara mandiri. Selain itu, prinsip ini juga menuntut perlindungan bagi individu yang memiliki keterbatasan atau kerentanan, agar terhindar dari kerugian maupun penyalahgunaan.

2. Prinsip berbuat baik (*beneficence*)

Prinsip etik berbuat baik menyangkut kewajiban membantu orang lain dilakukan dengan mengupayakan manfaat maksimal dengan kerugian minimal. Subjek manusia diikutsertakan dalam penelitian kesehatan dimaksudkan untuk membantu tercapainya tujuan penelitian kesehatan yang tepat untuk diaplikasikan kepada manusia

3. Tidak merugikan (*non-maleficence*)

Prinsip tidak merugikan adalah jika tidak dapat melakukan hal yang bermanfaat, sebaiknya jangan merugikan orang lain. Prinsip tidak merugikan bertujuan agar subjek penelitian tidak diperlakukan sebagai sarana dan memberikan perlindungan terhadap tindakan penyalahgunaan.

4. Prinsip keadilan (*justice*)

Prinsip etik keadilan mengacu pada kewajiban etik untuk memperlakukan setiap orang (sebagai pribadi otonom) sama dengan moral yang benar dan layak dalam memperoleh haknya. Prinsip etik keadilan terutama menyangkut keadilan yang merata (*distributive justice*) yang mensyaratkan pembagian seimbang (*equitable*) dalam hal beban dan manfaat yang diperoleh subjek dari keikutsertaan dalam penelitian

5. Prinsip menghormati privasi dan kerahasiaan subjek (*confidentiality*)

Peneliti wajib menjaga privasi serta kerahasiaan subjek penelitian. Setiap individu memiliki hak atas privasi dan kebebasan pribadi, sehingga apabila subjek tidak bersedia identitasnya dicantumkan, peneliti harus menjamin kerahasiaannya, misalnya dengan menggunakan inisial atau kode sebagai pengganti identitas asli.