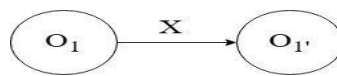


BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah quasi eksperimen atau eksperimen semu dengan rancangan *pretest posttest group design*, dilakukan dengan sebelum dan sesudah pemberian *eco enzyme* untuk melakukan perbandingan angka kuman.

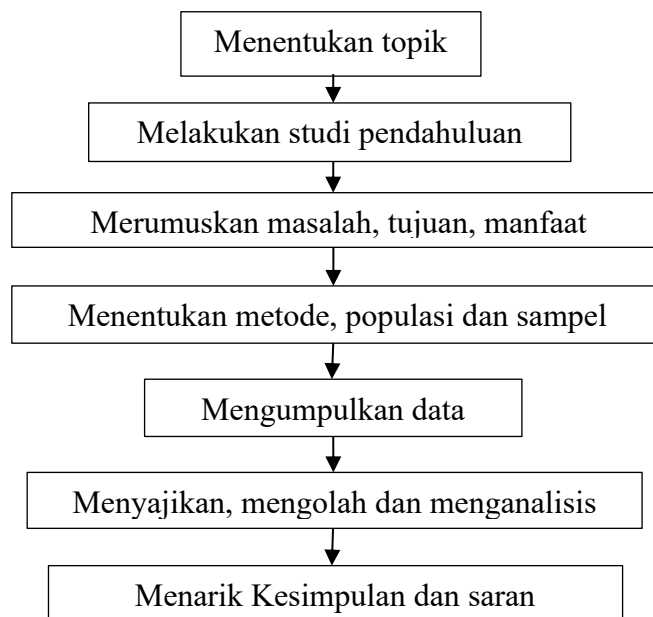


Gambar 3 Jenis Penelitian

Sampel pada ruang Pelayanan Kesehatan Ruang Inap Puskesmas Rendang menggunakan metode *settle plates*.

B. Alur Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahapan yang disusun secara sistematis. Adapun alur penelitian dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4 Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan pada UPTD Puskesmas Rendang yang beralamat di Jalan Gunung Batur No. 5 Menanga, Kecamatan Rendang, Kabupaten Karangasem, Bali. Penghitungan angka kuman dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Kesehatan Lingkungan Poltekkes Kemenkes Denpasar.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan Januari sampai dengan Bulan Juni 2026

D. Teknik Pengambilan Sampel

1. Unit analisis

Unit analisis pada penelitian ini adalah angka kuman udara pada ruang Rawat Inap Puskesmas Rendang. Subjek penelitian adalah petugas Rawat Inap Puskesmas Rendang.

2. Alat bahan dan cara kerja pengendalian pengambilan sampel angka kuman di udara

a. Alat

Teknik pengambilan sampel dilakukan dengan cara meletakkan cawan petri berisi media nutrient agar sebanyak 5 titik sesuai denah baik sebelum maupun sesudah proses disinfeksi, lalu dihitung menggunakan *colony counter* serta penghitungan kecepatan aliran udara menggunakan anemometer.

b. Bahan

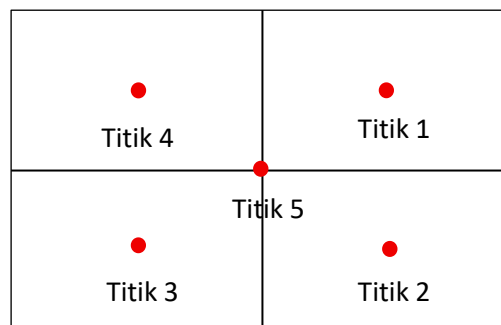
Bahan yang digunakan yaitu disinfektan *eco enzyme* konsentrasi 25% sebanyak 11 liter untuk proses disinfeksi dan menggunakan media nutrient agar sebanyak 12,5 gram sebagai media tumbuh kuman.

c. Cara kerja

- a) Penelitian ini menggunakan desain eksperimen dengan tujuan untuk menguji potensi *eco enzyme* dalam menurunkan angka kuman udara pada ruang pelayanan kesehatan inap di Puskesmas. Menurut Borg dan Gall dalam Alwi (2023), sampel minimal yang digunakan sebanyak 30 media agar untuk setiap kelompok pengukuran, hal ini dilakukan untuk memastikan validitas dan reliabilitas hasil penelitian.
- b) Lokasi penelitian dilakukan di ruang inap Puskesmas dengan pengambilan sampel udara menggunakan metode settle plate, yaitu dengan menempatkan cawan petri berisi media Nutrient Agar secara terbuka. Pengambilan sampel dilakukan pada 5 titik penempatan di dalam ruangan, yang ditentukan berdasarkan luas dan kondisi ruang sesuai standar SNI 7230:2009 (Kementerian PUPR, 2020). Karena volume ruang inap sebesar 80 m³ dan adanya bagian ruang yang tidak berbentuk persegi sempurna, maka titik sampel dibagi menjadi lima titik utama dan tiga titik tambahan yang merepresentasikan keseluruhan ruang secara representatif.
- c) Setiap titik pengambilan sampel dilakukan pengulangan pengukuran sebanyak tiga kali, baik sebelum maupun sesudah perlakuan disinfeksi menggunakan *eco enzyme* sebagai disinfektan, sehingga total media agar yang digunakan sebanyak 30 sampel (5 titik × 3 pengulangan × 2 kondisi). Metode ini memungkinkan evaluasi efektifitas *eco enzyme* secara kuantitatif terhadap penurunan angka kuman udara.
- d) Prosedur eksperimen diawali dengan pengambilan sampel awal (sebelum disinfeksi), kemudian dilakukan aplikasi disinfektan *eco enzyme* sebagai

perlakuan, dilanjutkan dengan pengambilan sampel setelah disinfeksi. Media agar yang telah terpapar udara kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24–48 jam untuk mengamati pertumbuhan mikroorganisme. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan uji komparatif untuk mengetahui perbedaan signifikan antara kondisi sebelum dan sesudah aplikasi *eco enzyme*.

- e) Metode pengambilan data ini mengacu pada pendekatan empiris dan sistematis yang terintegrasi dengan teori sanitasi lingkungan dan mikrobiologi kesehatan, sehingga hasil penelitian diharapkan memberikan kontribusi signifikan terhadap pengembangan metode pengendalian kualitas udara di fasilitas pelayanan Kesehatan.



Gambar 5 Denah Peletakan Media Nutrient Agar

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

a. Data primer

Data primer pada penelitian ini adalah informasi dari petugas Rawat Inap Puskesmas Rendang dan angka kuman di ruangan Rawat Inap Puskesmas Rendang.

b. Data sekunder

Data sekunder pada penelitian ini adalah data jumlah alat, jadwal penggunaan, mekanisme pembersihan ruangan, data prasarana besar ruangan, dan tata tertib.

2. Cara pengumpulan data

a. Pembuatan *eco enzyme*

Berdasarkan modul *Eco Enzyme Pemula (Eco Enzyme Nusantara, 2023)*, langkah-langkah pembuatan *eco enzyme* sebanyak 50 liter adalah sebagai berikut:

1) Persiapkan alat:

- a) Wadah plastik 50 liter bermulut lebar yang dapat ditutup rapat (hindari wadah logam karena berkarat dan wadah kaca karena mudah pecah).
- b) Alat pengaduk bersih.

2) Persiapkan bahan

- a) Sisa sayuran dan kulit buah segar sebanyak 10-12 kg (tidak berminyak, tidak busuk, dan tidak dimasak).
- b) Gula sebanyak 3,5-4 kg (dapat menggunakan molase, gula merah, gula aren, atau gula kelapa; gula pasir hanya digunakan bila pilihan lain tidak tersedia).
- c) Air bersih sebanyak 50 liter (air sumur, hujan, PAM, isi ulang, atau air buangan AC yang telah diendapkan).

3) Cara pembuatan *eco enzyme*

- a) Bersihkan wadah dari sisa sabun atau bahan kimia.
- b) Isi air bersih maksimal 60% dari kapasitas wadah.
- c) Masukkan gula/molase sebanyak 10% dari berat air.
- d) Masukkan potongan sisa buah dan sayur sebanyak tiga kali berat gula.

- e) Aduk hingga rata, lalu tutup wadah rapat-rapat.
- f) Beri label berisi tanggal pembuatan dan tanggal panen.

4) Proses Fermentasi

- a) Simpan wadah di tempat teduh, bersirkulasi udara baik, dan jauh dari sumber pencemar (WC, tong sampah, atau bahan kimia).
- b) Lama fermentasi adalah 3 bulan di wilayah tropis dan 6 bulan di wilayah subtropis.
- c) Hasil Eco Enzyme ditandai dengan cairan berwarna coklat (muda hingga tua) serta beraroma asam segar khas fermentasi.

b. Pembuatan media nutrient agar (NA)

Pembuatan media Nutrient Agar (NA) dilakukan sebagai media kultur untuk menumbuhkan dan menghitung koloni mikroorganisme yang diperoleh dari sampel udara selama penelitian.

1) Persiapkan alat:

- a) Labu erlenmeyer 500 ml
- b) Pengaduk
- c) Timbangan analitik
- d) Kompor elektrik
- e) Autoclave
- f) Pipet ukur steril
- g) Ball pipet
- h) Cawan petri
- i) Api Bunsen

2) Persiapkan bahan:

- a) Serbuk nutrient agar
- b) Aquades
- c) Kertas
- d) Kapas
- e) Aluminium foil

3) Cara pembuatan nutrient agar

- a) Timbang 12,5 gram serbuk nutrient agar untuk setiap 450 ml aquades.

Proses ini dilakukan sebanyak dua kali pembuatan sesuai kebutuhan.

- b) Larutan tersebut kemudian dipanaskan menggunakan kompor listrik dan dihomogenkan dengan pengaduk agar semua bahan tercampur merata dan agar larut sempurna.

- c) Tutup labu erlenmeyer yang berisi larutan nutrient agar menggunakan kapas kemudian bungkus dengan aluminium foil. Selanjutnya sterilisasi dilakukan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit agar media steril dan bebas kontaminan.

- d) Setelah sterilisasi, tuangkan media nutrient agar ke dalam cawan petri secara aseptik dan media siap digunakan untuk keperluan kultur mikroba.

c. Konsentrasi *eco enzyme*

Penggunaan *eco enzyme* sebagai disinfeksi dengan takaran 2,75 liter *eco enzyme* di larutkan dalam 8,25 liter aquades, Dimana didapatkan konsentrasi 25%. Konsentrasi tersebut menghasilkan formula *eco enzyme* sebanyak 1 l liter dan mampu untuk tiga kali pengulangan pengukuran.

d. Cara pengaplikasian *eco enzyme* untuk disinfeksi

Disinfektan *eco enzyme* dengan konsentrasi 25% dimasukkan ke dalam tangki air purelizer berkapasitas 500 ml, dimana nozzle menghasilkan droplet sangat kecil berbentuk embun dengan jangkauan 15 sampai 20 meter persegi.

e. Berikut adalah langkah-langkah pengukuran jumlah angka kuman di udara menggunakan metode settle plate serta analisis mikrobiologi sebelum dan sesudah disinfeksi:

1) Persiapan alat dan bahan

Siapkan *settle plate* yang berisi Nutrient Agar (NA) yang telah disterilkan sebelumnya.

2) Penempatan *settle plate*

Tempatkan *settle plate* pada titik-titik strategis di dalam laboratorium mikrobiologi yang berbeda untuk mengetahui kontaminasi mikrobiologi pada keseluruhan ruangan, dilakukan sebelum disinfeksi dan untuk perlakuan kedua dilakukan pengukuran setelah 10 menit penyemprotan.

3) Waktu penempatan

Diamkan *settle plate* terbuka selama 15 menit pada setiap titik pengambilan sampel.

4) Penutupan *settle plate*

Setelah 15 menit, tutup *settle plate* dan berikan label yang mencantumkan tanggal serta lokasi pengambilan sampel.

5) Inkubasi

Bawa sampel ke inkubator untuk proses inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

6) Perhitungan koloni

Menurut Permenkes No. 7 Tahun 2019 menyarankan bahwa angka kuman udara pada ruang rawat inap Puskesmas tidak boleh melebihi 200 CFU/m³ saat tidak ada kegiatan dan 500 CFU/m³ saat ada kegiatan. Setelah melakukan inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C, selanjutnya dilakukan penghitungan koloni yang terdapat pada permukaan media settle plate menggunakan *colony counter* dan pengukuran kecepatan aliran udara menggunakan anemometer, serta dilakukan perhitungan sesuai rumus angka kuman.

7) Analisis data

Analisis dilakukan untuk menentukan angka kuman udara dalam satuan koloni per unit waktu pengambilan sampel (CFU/m³ atau CFU/plate).

3. Instrumen pengumpulan data

a. *Ultrasonic mist system*

Alat spray yang digunakan untuk proses disinfeksi ruangan rawat inap dengan larutan *eco enzyme*.

b. *Settle plate* (pengukuran mikroorganisme di udara)

Alat untuk mengukur kebersihan udara, berupa piringan media nutrient agar yang digunakan untuk menangkap mikroorganisme di udara. Setelah masa inkubasi, jumlah koloni yang muncul dihitung per meter persegi.

c. *Colony counter*

Alat bantu untuk menghitung jumlah koloni mikroorganisme yang tumbuh pada media nutrient agar secara akurat.

d. *Anemometer*

Alat yang digunakan untuk mengukur kecepatan aliran udara di ruang Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Kesehatan Lingkungan.

e. *Formulir pencatatan*

Dokumen untuk mencatat seluruh kegiatan dan data yang diperoleh selama proses penelitian.

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan data

a. *Editing*

Tahap penyuntingan data berupa pemeriksaan kebenaran dan kelengkapan data dari lapangan. Data yang tidak lengkap atau salah segera dilengkapi atau dikoreksi untuk memastikan validitas data.

b. *Coding*

Setelah diedit, data berupa kalimat atau huruf diubah menjadi kode numerik agar mudah dianalisis secara statistik.

c. *Entry*

Data yang telah dikodekan dimasukkan ke dalam program atau perangkat lunak komputer untuk pengolahan lebih lanjut.

d. *Tabulating*

Data yang sudah masuk program disusun dalam bentuk tabel yang sesuai dengan tujuan penelitian.

e. *Analyzing*

Data dalam tabel dianalisis sesuai dengan maksud dan tujuan penelitian. Analisis dapat dilakukan secara deskriptif, statistik, atau metode lain sesuai kebutuhan penelitian.

2. Analisis data

a. Analisis univariat

Analisis ini bertujuan untuk mengetahui nilai rata-rata angka kuman udara sebelum dan sesudah desinfeksi menggunakan *eco enzyme* serta menentukan efektivitas desinfeksi. Analisis univariat berfokus pada satu variabel untuk mendeskripsikan data, seperti nilai rata-rata dan distribusi frekuensi.

b. Analisis bivariat

Digunakan untuk menguji perbedaan angka kuman udara sebelum dan sesudah desinfeksi dengan *eco enzyme*. Pertama, data diuji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Jika data berdistribusi normal, uji yang digunakan adalah *Paired T-Test* (uji T sampel berpasangan). Jika data tidak berdistribusi normal, digunakan uji non-parametrik *Wilcoxon Signed Rank*. Analisis ini bertujuan melihat hubungan atau perbedaan antara dua variabel terkait.

G. Etika Penelitian

Penelitian ini mengedepankan prinsip-prinsip etika yang meliputi hak-hak individu yang menjadi subjek penelitian, dengan mengikuti pedoman-pedoman utama berikut:

1. *Respect for Person* (Menghormati Individu)

Peneliti menghormati martabat, otonomi, dan kebebasan individu, serta mengakui keragaman budaya subjek penelitian. Kerahasiaan informasi dijaga, dan persetujuan sukarela (*informed consent*) wajib diperoleh sebelum penelitian dimulai.

2. *Beneficence* (Berbuat Baik dan Tidak Merugikan)

Peneliti menjamin bahwa subjek penelitian tidak mengalami kerugian signifikan. Manfaat penelitian diupayakan lebih besar dari risikonya, dan risiko diminimalisir dengan teliti melalui tinjauan literatur dan desain penelitian yang aman.

3. *Justice* (Keadilan)

Semua subjek penelitian mendapatkan perlakuan adil dan setara tanpa diskriminasi. Risiko dan manfaat penelitian didistribusikan secara seimbang, dan perlakuan berdasarkan latar belakang dan kondisi subjek dilakukan secara etis.