

BAB IV

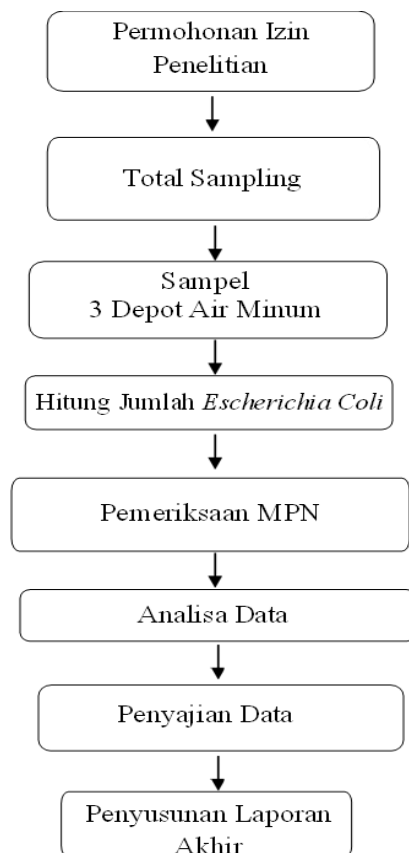
METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan pendekatan kuantitatif dengan desain deskriptif. Sampel penelitian dikelompokkan berdasarkan variasi lama penyimpanan air, yaitu 0, 6, 12, dan 18 hari. Selanjutnya, setiap sampel diperiksa secara mikrobiologis menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN) untuk mengetahui keberadaan *Escherichia coli*. Seluruh tahapan pemeriksaan dilakukan di laboratorium.

B. Alur Penelitian

Alur Penelitian ini meliputi beberapa tahapan sebagai berikut:



Gambar 3 Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu

1. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Panureksa Utama yang berlokasi di Kecamatan Denpasar Utara, Kota Denpasar, Provinsi Bali.

2. Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni 2026.

D. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi penelitian merupakan keseluruhan objek yang menjadi sumber data sesuai dengan tujuan penelitian. Populasi dalam penelitian ini terdiri atas 34 Depot Air Minum Isi Ulang yang berada di wilayah Pemogan, Denpasar Selatan.

2. Besar Sampel

Pengambilan sampel dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode purposive sampling, yaitu pengambilan sampel berdasarkan kriteria tertentu yang telah ditetapkan oleh peneliti. Sampel berupa air minum isi ulang yang diperoleh dari tiga depot yang berbeda di Desa Pemogan. Pemilihan tiga depot tersebut mempertimbangkan keterbatasan waktu, biaya, serta aksesibilitas lokasi penelitian.

Sampel air minum isi ulang diambil secara aseptik menggunakan wadah steril. Selanjutnya, sampel dibagi berdasarkan perlakuan lama penyimpanan yang berbeda, yaitu 0 hari, 6 hari, 12 hari dan 18 hari. Pada setiap variasi lama penyimpanan dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali. Jumlah sampel pada penelitian ini dihitung menggunakan rumus:

Rumus: $n = S \times P \times R$

Dimana S adalah jumlah sumber sampel, P adalah jumlah perlakuan, dan R adalah jumlah pengulangan, sehingga total sampel yang digunakan dalam penelitian ini berjumlah 24 sampel.

Sampel dengan perlakuan penyimpanan 0 hari diperiksa pada hari yang sama dengan waktu pengambilan. Sementara itu, sampel dengan lama penyimpanan 6, 12, dan 18 hari disimpan sesuai dengan kondisi perlakuan yang telah ditentukan. Setelah mencapai waktu penyimpanan yang ditetapkan, seluruh sampel diperiksa untuk mengetahui cemaran *Escherichia coli* menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN).

3. Teknik Pengambilan Sampel

a. Tahap Pra-Analitik

Tahap pra-analitik merupakan rangkaian kegiatan yang dilakukan sebelum pemeriksaan sampel di Laboratorium. Tahapan yang dilakukan meliputi:

- 1) Menentukan lokasi penelitian, yaitu 3 depot air minum isi ulang.
- 2) Menyiapkan alat dan bahan yang diperlukan, meliputi:
 - Botol steril dengan volume ± 100 ml
 - Spidol dan label sampel
 - Sarung tangan (APD)
 - Cooler box
- 3) Memberikan label pada botol sampel yang mencantumkan kode depot, tanggal, dan waktu pengambilan.
- 4) Melakukan kebersihan tangan serta menggunakan APD sebelum proses pengambilan sampel.

- 5) Membiarkan air mengalir dari kran pengisian depot selama $\pm 1-2$ menit sebelum pengambilan sampel diambil untuk mengurangi kemungkinan kontaminasi dari air yang mengendap.
- 6) Mengambil air secara langsung dari kran pengisian ke dalam botol steril dengan menghindari kontak dengan bagian dalam botol maupun tutup botol.
- 7) Menutup botol sampel hingga rapat
- 8) Membawa sampel air segera ke laboratorium untuk dilakukan pemeriksaan mikrobiologi.

b. Tahap Analitik

Tahap analitik merupakan proses pemeriksaan sampel yang dilakukan di laboratorium untuk mengetahui keberadaan dan jumlah *Escherichia coli*. Tahapan pemeriksaan yang dilakukan meliputi:

- 1) Memeriksa kondisi sampel yang diterima, meliputi kesesuaian label, volume sampel, dan kondisi botol untuk memastikan tidak terjadi kebocoran.
- 2) Melakukan pemeriksaan *Escherichia coli* menggunakan metode yang *Most Probable Number* (MPN) sesuai dengan prosedur pemeriksaan yang telah ditetapkan. Berikut prosedur pemeriksaannya:
 - a) Pemeriksaan pendahuluan (*presumptive test*)

Tujuan dari pemeriksaan ini untuk mengetahui adanya dugaan bakteri *Escherichia coli* dalam sampel air yang diperiksa.

- (1) Menyiapkan tabung reaksi dan media Lactose Broth sesuai dengan jumlah sampel dan pengulangan yang telah ditentukan.
- (2) Sampel air diambil menggunakan pipet steril sebanyak 3×10 mL.
Masing-masing sampel kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi

yang telah berisi 10 mL media Lactose Broth. Tabung dikocok hingga sampel dan media tercampur secara homogen, kemudian disimpan.

(3) Tahapan selanjutnya dilakukan dengan cara:

- Sebanyak 3 x 10 mL sampel dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi yang telah berisi 5 mL media Lactose Broth.
- Sebanyak 3 x 0,1 mL sampel dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi yang telah berisi 5 mL media.

(4) Seluruh tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam

(5) Prosedur yang sama dilakukan pada sampel dengan lama penyimpanan 0, 6, 12, dan 18 hari.

(6) Setelah proses inkubasi selesai, dilakukan pengamatan terhadap perubahan pada media, terutama pembentukan gas pada tabung Durham dan perubahan tingkat kekeruhan media.

(7) Tabung yang menunjukkan hasil positif selanjutnya digunakan untuk uji penegasan (*Confirm Test*).

b) Pemeriksaan penegas (*Confirm test*)

(1) Amati setiap tabung untuk mengetahui adanya pembentukan gas pada tabung Durham.

(2) Dari setiap tabung yang menunjukkan hasil positif, ambil 1-2 ose inokulum menggunakan ose bulat, kemudian inokulasikan pada media EMB untuk memperoleh koloni yang terpisah.

(3) Inkubasi media pada suhu 37°C selama 24 jam

(4) Amati pertumbuhan koloni yang terbentuk pada media.

(5) Kemudian dilanjutkan dengan uji pelengkap (*Complete test*)

(6) Terbentuknya gas disertai perubahan media menjadi keruh menunjukkan dugaan adanya bakteri *Escherichia coli* pada sampel

c) Pemeriksaan pelengkap (*Complete test*)

(1) Perhatikan setiap tabung untuk mengetahui terbentuknya gas pada tabung durham dan amati terbentuknya gas pada tabung durham.

(2) Dari setiap tabung yang menunjukkan hasil positif, ambil 1-2 ose inokulum menggunakan ose bulat, kemudian inokulasikan pada media EMB untuk memperoleh koloni yang terpisah.

(3) Ambil 1-2 ose inokulum dari media yang menunjukkan pertumbuhan koloni menggunakan ose lurus.

(4) Tusukkan ose lurus tersebut ke dalam media agar miring TSIA hingga mencapai dasar tabung, kemudian goreskan secara zig-zag pada permukaan media.

(5) Diinkubasi media pada suhu 37°C selama 24 jam

(6) Amati dan baca hasil

c. Tahap Pasca-analitik

Tahap pasca-analitik meliputi kegiatan setelah pemeriksaan laboratorium selesai, yaitu:

- 1) Mencatat dan mengolah hasil pemeriksaan jumlah *Escherichia coli*.
- 2) Membandingkan hasil pemeriksaan dengan standar kualitas air minum yang berlaku, yaitu 0 *Escherichia coli*/100 ml sampel.
- 3) Melakukan analisis data untuk mengetahui gambaran lama penyimpanan dengan keberadaan *Escherichia coli* pada air dari tiga depot air minum isi ulang yang berada di Desa Pemogan.

- 4) Menyajikan hasil dalam bentuk tabel dan narasi.
- 5) Menarik kesimpulan berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh.

E. Jenis Dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis Data

Penelitian ini menggunakan 2 jenis data, yaitu:

a. Data Primer

Menurut Sugiyono (2018), observasi merupakan salah satu teknik pengumpulan data yang memiliki karakteristik khusus dibandingkan dengan teknik pengumpulan data lainnya. Teknik ini tidak hanya digunakan untuk mengamati manusia, tetapi juga dapat diterapkan pada berbagai objek alam lainnya. Melalui observasi, peneliti dapat memperoleh pemahaman mengenai perilaku serta makna yang terkandung di dalamnya. Dalam penelitian ini, observasi dilakukan melalui pengamatan secara langsung pada depot air minum isi ulang selama proses pengambilan sampel dari depot yang telah ditentukan.

Data primer dalam penelitian ini diperoleh dari hasil pemeriksaan laboratorium terhadap sampel air minum isi ulang untuk mengetahui jumlah *Escherichia coli*

b. Data Sekunder

Menurut Sugiyono (2018), data sekunder merupakan sumber data yang diperoleh secara tidak langsung oleh pengumpul data, seperti melalui pihak lain atau dokumen. Dalam penelitian ini, data sekunder diperoleh dari berbagai dokumen, buku teks, dan jurnal ilmiah yang relevan dengan topik penelitian.

2. Teknik Pengumpulan Data

1. Observasi

Menurut Sugiyono (2018), observasi merupakan salah satu teknik pengumpulan data yang memiliki karakteristik khusus dibandingkan dengan teknik pengumpulan data lainnya. Teknik ini tidak hanya digunakan untuk mengamati manusia, tetapi juga dapat diterapkan pada berbagai objek alam lainnya. Melalui observasi, peneliti dapat memperoleh pemahaman mengenai perilaku serta makna yang terkandung di dalamnya. Dalam penelitian ini, observasi dilakukan melalui pengamatan secara langsung pada depot air minum isi ulang selama proses pengambilan sampel dari depot yang telah ditentukan.

2. Pemeriksaan Laboratorium

Pemeriksaan MPN (*Most Probable Number*) dilakukan untuk mengetahui keberadaan adanya *Escherichia coli* pada sampel air minum isi ulang. Tahapan yang dilakukan, meliputi tahap inokulasi, inkubasi, pengamatan hasil, dan perhitungan jumlah bakteri. Hasil pemeriksaan dicatat dalam formulir pencatatan hasil untuk selanjutnya dianalisis.

3. Instrumen Pengumpul Data

Instrumen yang digunakan dalam pengumpulan data pada penelitian ini meliputi beberapa alat berikut:

1. Alat tulis (Kertas dan pulpen)

Digunakan untuk mencatat pengambilan sampel dan data tambahan selama kegiatan.

2. Instrumen untuk memperoleh sampel dari depot air minum isi ulang. Peralatan yang digunakan untuk memperoleh sampel meliputi:

- 1) Tempat botol steril
- 2) Sarung tangan sekali pakai (handscon)

- 3) Label sampel
- 4) Spidol permanen, serta
- 5) Cooler box untuk menjaga kondisi sampel sebelum dibawa ke laboratorium.

3. Peralatan pemeriksaan jumlah *Escherichia coli*

Alat yang digunakan dalam pemeriksaan *Escherichia coli* dengan metode MPN meliputi:

- 1) Tabung reaksi
- 2) Rak tabung reaksi
- 3) Pipet ukur atau pipet volume steril
- 4) Pipet filler atau mikropipet
- 5) Inkubator
- 6) Autoklaf
- 7) Laminar air flow/ BSC
- 8) Bunsen atau lampu spiritus
- 9) Spidol
- 10) Lembar data hasil

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan Data

Data yang telah diperoleh selanjutnya diproses melalui beberapa tahapan pengolahan, yaitu sebagai berikut:

a. Editing

Editing merupakan tahap awal dalam pengolahan data yang dilakukan dengan cara memeriksa kembali data hasil pemeriksaan laboratorium. Tujuan editing

adalah untuk memastikan bahwa data yang diperoleh sudah lengkap, jelas, konsisten, dan tidak terdapat kesalahan pencatatan. Pada penelitian ini, editing dilakukan dengan memeriksa seluruh data hasil pemeriksaan cemaran *Escherichia coli* pada air minum isi ulang dari tiga depot air minum isi ulang di Desa Pemogan setelah diberikan perlakuan berupa variasi lama penyimpanan.

Pemeriksaan dilakukan untuk memastikan kesesuaian antara kelompok lama penyimpanan (0, 6, 12, 18 hari) dengan hasil pemeriksaan mikrobiologis yang diperoleh. Data yang tidak lengkap, tidak konsisten, atau tidak sesuai dengan prosedur penelitian deskriptif tidak dimasukkan dalam tahap analisis.

b. Tabulasi

Tabulasi merupakan proses penyusunan data yang telah melalui tahap editing ke dalam bentuk tabel. Tabulasi dalam penelitian ini dilakukan dengan menyusun data hasil pemeriksaan cemaran *Escherichia coli* ke dalam tabel berdasarkan variasi lama penyimpanan dan depot air minum isi ulang. Data yang telah melalui tahap editing dan coding disajikan dalam bentuk tabel yang memuat kode depot, lama penyimpanan, serta hasil pemeriksaan *Escherichia coli*. Penyusunan data dalam bentuk tabel bertujuan untuk memudahkan peneliti dalam membandingkan hasil antar kelompok lama penyimpanan dan selanjutnya menganalisis gambaran lama penyimpanan dengan keberadaan *Escherichia coli* pada air minum isi ulang.

2. Analisis Data

a. Analisis Bivariat

Dalam penelitian ini, analisis bivariat digunakan untuk menganalisis gambaran lama penyimpanan air minum isi ulang dengan keberadaan bakteri *Escherichia coli*. Analisis dilakukan dengan membandingkan hasil pemeriksaan *Escherichia coli*

pada variasi lama penyimpanan 0 hari, 6 hari, 12 hari, dan 18 hari. Analisis statistik dilakukan melalui beberapa tahapan sebagai berikut:

1. Uji Normalitas (*Shapiro-Wilk*)

Uji Shapiro-Wilk diterapkan berdasarkan data mentah yang belum diolah menjadi tabel distribusi frekuensi. Shapiro Wilk adalah salah satu uji normalitas yang dianjurkan oleh banyak pakar apabila jumlah sampel kecil yaitu kurang dari atau sama dengan 50 sampel. Prosedur ini melibatkan pengurutan data dan pengelompokannya menjadi dua bagian untuk tujuan konversi. Selain itu, luas di bawah kurva normal juga dapat dihitung menggunakan nilai Z.

2. Uji One-way ANOVA (*Analysis of Variances*)

Uji One-way ANOVA merupakan metode statistik yang digunakan untuk menganalisis perbedaan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* berdasarkan variasi lama penyimpanan air minum isi ulang. Dalam penelitian ini, lama penyimpanan dibagi menjadi empat kelompok perlakuan, yaitu 0 hari, 6 hari, 12 hari, dan 18 hari. Penerapan uji One-Way ANOVA mensyaratkan bahwa data berdistribusi normal, memiliki varians yang homogen, serta berasal dari sampel yang independen. Apabila hasil uji menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan secara statistik ($p < 0,05$), analisis dilanjutkan dengan uji post hoc untuk menentukan kelompok lama penyimpanan yang memiliki perbedaan signifikan (Ghozali, 2021).

Apabila hasil pemeriksaan *Escherichia coli* pada seluruh variasi lama penyimpanan menunjukkan nilai yang sama, yaitu 0 MPN/100 mL, maka data tidak dilakukan pengujian hipotesis menggunakan uji statistik dan selanjutnya dianalisis secara deskriptif.

3. Uji Kruskal-Wallis

Apabila data berdistribusi tidak normal maka dilakukan uji Kruskal-Wallis. Analisis Kruskal-Wallis digunakan dalam penelitian komparatif yang membandingkan tiga atau lebih kelompok independen. Uji ini digunakan sebagai alternatif One Way ANOVA ketika data tidak memenuhi asumsi normalitas. Pengujian dilakukan berdasarkan peringkat (ranking) data sehingga dapat digunakan pada data yang tidak berdistribusi normal. Dalam penelitian ini, uji Kruskal-Wallis digunakan untuk mengetahui perbedaan cemaran *Escherichia coli* pada air minum isi ulang berdasarkan lama penyimpanan apabila data tidak berdistribusi normal (Chicco, Sichenze, & Jurman, 2025).

G. Etika Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan setelah memperoleh persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan. Prinsip etika penelitian yang diterapkan meliputi:

1. Kerahasiaan (Confidentiality)

Identitas depot dan data yang dikumpulkan akan dijaga kerahasiaannya. Dalam laporan penelitian dan publikasi ilmiah, depot akan diberi kode tanpa menyebutkan nama atau alamat web lengkap depot. Data penelitian hanya akan diakses oleh tim peneliti dan tidak akan dipublikasikan atau disebarluaskan kepada pihak lain tanpa izin dari subjek penelitian.

2. Izin Penelitian

Penelitian ini akan mengurus izin penelitian dari instansi terkait, yaitu: Perbekel Desa yang ada di wilayah Pemogan, Kecamatan Denpasar Selatan.

3. Publikasi Hasil Penelitian

Hasil penelitian akan dipublikasikan dalam bentuk skripsi, artikel ilmiah, atau presentasi dalam forum ilmiah dengan tetap menjaga kerahasiaan identitas subjek

penelitian. Jika terdapat temuan yang mengindikasikan risiko kesehatan masyarakat yang serius, maka informasi tersebut akan dilaporkan kepada instansi yang berwenang (Dinas Kesehatan) untuk tindak lanjut yang sesuai, dengan tetap memperhatikan prinsip kerahasiaan.