

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis dan Desain Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah deskriptif dengan menggunakan metode *Ex Post Facto*. Penelitian ini dilakukan dengan tidak memberikan perlakuan/kontrol tertentu terhadap variabel-variabel secara langsung karena perwujudan variabel tersebut telah terjadi atau karena variabel dalam penelitian ini tidak dapat dimanipulasi (Adinuansah. 2014).

#### **3.2 Tempat dan Waktu penelitian**

##### **3.2.1 Tempat**

Tempat pengambilan sampel air minum isi ulang dilakukan di Depot Air Minum (DAM) yang berada di kecamatan Rungkut Surabaya dan pengujian kandungan bakteri koliform dilakukan di Laboratorium Kesehatan Dinas Kesehatan Kota Surabaya.

##### **3.2.2 Waktu**

Penelitian ini dilaksanakan mulai September 2015 sampai Januari 2016.

### **3.3 Populasi dan Sampel**

#### **3.3.1 Populasi**

Populasi dari penelitian ini adalah seluruh DAM di wilayah kecamatan Rungkut, sebanyak 22 DAM meliputi: 16 DAM menggunakan UV dan 6 DAM menggunakan Ozon.

#### **3.3.2 Sampel**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 22 sampel air meliputi 16 sampel air dari DAM menggunakan UV dan 6 sampel air dari DAM yang menggunakan Ozon.

### **3.4 Subjek dan Objek Penelitian**

Subjek dalam penelitian ini adalah metode sterilisasi Ozon dan Ultraviolet (UV) pada Depot Air Minum (DAM). Metode Sinar Ultraviolet (UV) adalah radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang lebih pendek dari spektrum, sedangkan metode Ozon adalah penggunaan senyawa  $O_3$  yang mampu membunuh bakteri dan mempunyai daya oksidasi yang kuat. Objek dalam penelitian ini adalah jumlah bakteri koliform pada sampel air minum isi ulang. Jumlah bakteri koliform dalam penelitian ini adalah angka yang menunjukkan jumlah bakteri koliform dalam kandungan 100 ml sampel air.

### **3.5 Teknik Pengumpulan Data dan Instrumen Penelitian**

#### **3.5.1 Teknik Pengumpulan Data**

Teknik pengumpulan data dalam penelitian ini terdiri dari observasi, wawancara dan pengujian laboratorium.

- a. Observasi dilakukan untuk mendata dan mengamati semua populasi dan sampel DAM di kecamatan Rungkut Surabaya sebelum melakukan pengambilan sampel air minum isi ulang.
- b. Wawancara dilakukan dengan cara mengisi lembar kuisioner data mengenai DAM di kecamatan Rungkut Surabaya. Setelah wawancara dilakukan pengambilan sampel air minum isi ulang.
- c. Pengujian laboratorium dilakukan untuk mengetahui jumlah kandungan bakteri koliform pada sampel air minum isi ulang yang diambil pada DAM.

#### **3.5.2 Instrumen Penelitian**

Instrumen yang digunakan pada wawancara adalah berupa lembar kuisioner yang tercantum pada lampiran 5. Sedangkan prosedur pengambilan sampel air minum isi ulang tercantum pada prosedur penelitian dan pengujian bakteri koliform menggunakan metode MPN koliform.

### **3.6 Prosedur Penelitian**

Persiapan penelitian meliputi:

#### **A. Sterilisasi botol (Depkes RI, 1995)**

sterilisasi botol dilakukan oleh petugas pemeriksa laboratorium.

Alat yang digunakan adalah botol sampel ukuran 200 ml, kertas coklat atau aluminium foil, benang wool, oven udara panas atau autoclave.

Bahan yang digunakan adalah cairan tiosulfat 10%, aquades steril.

Prosedur :

1. Disiapkan botol sampel ukuran 200 ml
2. Ditetesi empat atau lima tetes cairan. 10% cairan tiosulfat kedalam masing-masing botol sampel
3. Ditutup mulut botol dengan kapas yang dilonggarkan untuk mencegah masuknya debu
4. Diselimutkan selembar kertas berwarna coklat atau aluminium foil sampai leher botol kemudian ditali dengan benang wool
5. Disterilkan botol dalam oven udara panas selama 20 menit pada temperatur 170° C atau autoclave selama 20 menit pada temperatur 120° C

## **B. Pengambilan sampel air**

Alat yang digunakan adalah hand glove, masker, kapas, botol sampel, korek api, kertas coklat tali wool, kertas label, pena

Bahan yang digunakan adalah alkohol

Prosedur :

1. Membersihkan ujung kran dari segala debu dan kotoran yang menempel dengan menggunakan tissue.
2. Membuka kran sampai air mengalir secara maksimal dan tutup kembali.
3. Mensterilkan kran dengan kapas yang telah dicelupkan kedalam alkohol.

4. Memanasi ujung tutup botol sampel dengan korek api agar steril
5. Membuka kran terlebih dahulu untuk pengambilan sampel dengan aliran sedang kemudian mengisikan dalam botol dan menyisakan ruang udara dalam botol
6. Memanasi ujung botol dengan korek api agar steril kemudian segera menutup tutup botol dan disumbat atau ditutup dengan dimanteli kertas coklat ditempatnya kemudian ditali dan diberi label sampel.

### **C. Pengiriman sampel**

1. Meletakkan sampel air didalam ice bag sebelum dikirim. Jika pengiriman lebih dari 24 jam, menggunakan media khusus yaitu holding media. 4° C-10° C yang merupakan temperature ideal untuk menyimpan sampel di daerah yang beriklim tropis.
2. Menuliskan setiap botol sampel yang akan dikirimkan dengan keterangan yang meliputi waktu, tempat dan nama sampel air.
3. Mengirim botol sampel ke laboratorium untuk diperiksa

### **D. Pelaksanaan Pengujian Lab**

#### **1. Pembuatan media ( Lab Dinkes Surabaya, 2015)**

pembuatan media dilakukan oleh petugas pemeriksa laboratorium

##### **a. Laktosa Broth I**

Alat yang digunakan adalah tabung reaksi, tabung durham, rak tabung, autoclave, erlenmeyer, bunsen, labu ukur, pipet ukur 10 ml, kertas pH, kertas lemak, kapas.

Bahan yang digunakan adalah reagen lactose broth merk KGaA 1.07661.0500 13 gram, aquades 1 liter

Prosedur :

1. Dicampurkan reagen diatas dan dilarutkan dengan aquades kemudian dipanaskan.
2. Diatur pH larutan  $6,9 \pm 0,2$  pada suhu  $25^{\circ}\text{C}$
3. Dimasukkan larutan LB I sebanyak 10 ml kedalam tabung reaksi yang telah berisi tabung durham dengan posisi terbalik, tutup dengan kertas berlemak dan sterilkan pada autoclave dengan suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit

#### **b. Laktosa Broth II**

Alat yang digunakan adalah tabung reaksi, tabung durham, rak tabung, autoclave, erlenmeyer, bunsen, labu ukur, pipet ukur 10 ml, kertas pH, kertas lemak, kapas.

Bahan yang digunakan adalah reagen lactose broth merk KGaA 1.07661.0500 26 gram, aquades 1 liter

Prosedur :

1. Dicampurkan reagen diatas dan dilarutkan dengan aquades kemudian dipanaskan.
2. Diatur pH larutan  $6,9 \pm 0,2$  pada suhu  $25^{\circ}\text{C}$

3. Dimasukkan larutan LB II sebanyak 10 ml kedalam tabung reaksi yang telah berisi tabung durham dengan posisi terbalik, tutup dengan kertas berlemak dan sterilkan pada autoclave dengan suhu 121° C selama 15 menit

**c. Laktosa Broth III**

Alat yang digunakan adalah tabung reaksi, tabung durham, rak tabung, autoclave, erlenmeyer, bunsen, labu ukur, pipet ukur 10 ml, kertas pH, kertas lemak, kapas.

Bahan yang digunakan adalah reagen lactose broth merck KGaA 1.07661.0500 39 gram, aquades 1 liter

Prosedur :

1. Dicampurkan reagen diatas dan dilarutkan dengan aquades kemudian dipanaskan.
2. Diatur pH larutan  $6,9 \pm 0,2$  pada suhu 25° C
3. Dimasukkan larutan LB III sebanyak 10 ml kedalam tabung reaksi yang telah berisi tabung durham dengan posisi terbalik, tutup dengan kertas berlemak dan sterilkan pada autoclave dengan suhu 121° C selama 15 menit

**d. Brilliant Green Laktosa Broth (BGLB)**

Alat yang digunakan adalah tabung reaksi, tabung durham, rak tabung, autoclave, erlenmeyer, bunsen, labu ukur, pipet ukur 10 ml, kertas pH, kertas lemak, kapas.

Bahan yang digunakan adalah reagen BRILA broth merk KGaA 1.05454.0500 13 gram, aquades 1 liter

Prosedur :

1. Dicampurkan reagen diatas dan dilarutkan dengan aquades kemudian dipanaskan.
2. Diatur pH larutan  $6,9 \pm 0,2$  pada suhu  $25^{\circ}\text{C}$
3. Dimasukkan larutan BGLB sebanyak 10 ml kedalam tabung reaksi yang telah berisi tabung durham dengan posisi terbalik, tutup dengan kertas berlemak dan sterilkan pada autoclave dengan suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit

## **2. Pengujian sampel ( Lab Dinkes Surabaya, 2015)**

Pengujian sampel dilakukan oleh petugas laboratorium. Pengujian sampel terdiri dari 2 tahap, yaitu

### **a. Uji Penduga (Persumptive Test)**

Alat yang digunakan adalah tabung media, pipet ukur 10 ml, 1 ml, 0,1 ml, rak tabung, inkubator, kertas label, pena, kapas, hand glove, masker

Bahan yang digunakan adalah media LB I, media LB II, media LB III, air sampel

Prosedur:

1. Disiapkan tabung media LB I sebanyak 1 tabung, LB II sebanyak 1 tabung dan LB III sebanyak 5 tabung



2. Diambil air sampel dengan menggunakan pipet ukur sebanyak 10 ml sampel kedalam media LB III, 1 ml air sampel kedalam media LB II dan 0,1 ml air sampel kedalam media LB I
3. Digoyangkan semua tabung agar sampel homogen atau tercampur dengan media sampel.
4. Ditungkup masing-masing tabung dengan kapas.
5. Diinkubasi pada suhu 37° C selama 2x24 jam.
6. Setelah 2x24 jam diamati adanya gas pada tabung durham, apabila terdapat gas dalam tabung maka dilanjutkan dengan uji penguat.

**b. Uji Penegasan (Confirmed Test)**

Alat yang digunakan adalah tabung media, jarum ose bulat, rak tabung, inkubator, kertas label, pena, kapas, hand glove, masker

Bahan yang digunakan adalah media BGLB

Prosedur:

1. Diambil/dipindahkan 1-2 mata ose kedalam tabung media BGLB 10 ml. dari masing-masing tabung yang menghasilkan gas (positif) pada uji penduga
2. Diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam.  
dilakukan pembacaan setelah 24 jam, amati adanya gas didalam tabung durham. Tabung yang mengandung gas dicatat sebagai sampel yang mengandung bakteri koliform.

**3. Pembacaan data ( Lab Dinkes Surabaya, 2015)**

Pembacaan data dilakukan oleh petugas pemeriksa laboratorium.

Dicatat jumlah tabung tes penegasan (tabung BGLB) yang menunjukkan positif gas.angka yang diperoleh dicocokkan dengan taben MPN sehingga diperoleh indeks MPN bakteri koliform.

**Tabel 3.1** Daftar nilai MPN (Depkes RI, 1995)

Daftar nilai MPN, menggunakan 7 tabung			
Kombinasi/Jumlah tabung yang positif			
10 ml	1 ml	0,1 ml	MPN/100 ml
0	0	0	0
0	0	1	2
0	1	0	2
0	1	1	4
1	0	0	2,2
1	0	1	4,4
1	1	0	4,4
1	1	1	6,7
2	0	0	5
2	0	1	7,5
2	1	0	7,6
2	1	1	10
3	0	0	8,8
3	0	1	12
3	1	0	12
3	1	1	16
4	0	0	15
4	0	1	20
4	1	0	21
4	1	1	27
5	0	0	38
5	0	1	96
5	1	0	240
5	1	1	≥ 240

### 3.7 Tabulasi Data

Jumlah bakteri koliform setelah dihitung, dapat ditabulasikan kedalam tabel.

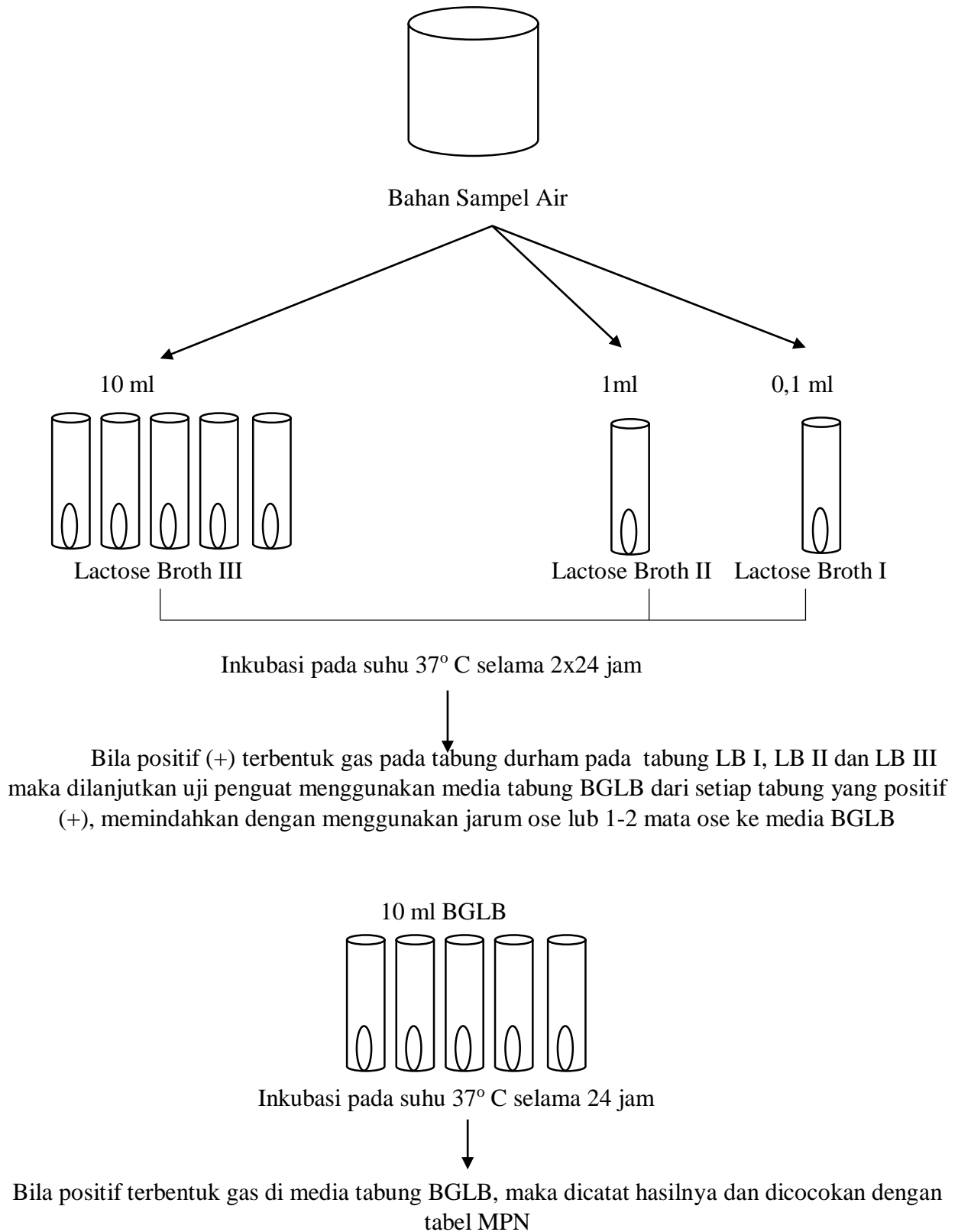
**Tabel 3.2** Hasil pengujian MPN koliform antara metode sterilisasi UV dan metode sterilisasi Ozon.

No.	Metode Ozon						Metode UV					
	Kode sampel	10	1	0,1	$\sum$ MPN	Ket.	Kode sampel	10	1	0,1	$\sum$ MPN	Ket.
1												
2												
3												
4												
5												
6												
7												
8												
9												
10												
11												
12												
13												
14												
15												
16												

Keterangan : MS : Memenuhi Syarat

TMS : Tidak Memenuhi Syarat

**Gambar 3.1** Skema Prosedur Pengujian MPN Koliform



### **3.8 Teknik Analisis Data**

Data yang hasil wawancara dianalisis secara deskriptif dengan metode rata-rata (*average*) dan prosentase (%) dengan mengacu pada Permenkes No. 492/MENKES /PER/IV /2010 tentang persyaratan kualitas air minum berdasarkan parameter mikrobiologis.. Data hasil pengujian laboratorium ditabulasikan dalam tabel dan dilakukan uji t-bebas dengan tujuan untuk mengetahui perbedaan jumlah bakteri koliform.