

## BAB 3

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Desain Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian ini adalah observasional analitik yang bertujuan untuk membandingkan hasil pemeriksaan bakteri *Escherichia coli* pada air sumur gali dan bor di desa Tebul Timur Kabupaten Pamekasan Madura.

#### 3.2 Populasi dan Sampel

##### 3.2.1 Populasi Penelitian

Populasi pada penelitian ini adalah semua sumur gali dan bor yang berada di desa Tebul Timur Kabupaten Pamekasan Madura. Sabanyak 15 sumur gali dan 15 sumur bor.

##### 3.2.2 Sampel Penelitian

Sampel air sumur yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah 30 sampel air sumur. Yang terdiri dari 15 sumur gali dan 15 sampel air sumur bor yang diambil dengan menggunakan total sampling.

#### 3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

##### 3.3.1 Lokasi Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel air sumur bor dan gali di desa Tebul Timur Kabupaten Pamekasan Madura.

##### 3.3.2 Lokasi Pemeriksaan Sampel

Pemeriksaan bakteri *Escherichia coli* pada air sumur bor dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Prodi D3 Analisis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan di Universitas Muhammadiyah Surabaya.

### 3.3.3 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2018 sampai dengan bulan Agustus 2019, sedangkan waktu pemeriksaan dilakukan pada bulan Juli 2019.

## 3.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

### 3.4.1 Variabel bebas

Sumur gali dan sumur bor di desa Tebul Timur Kabupaten Pamekasan Madura

### 3.4.2 Variabel Terikat

Hasil pemeriksaan bakteri *Escherichia coli* yang dinyatakan dengan skala nominal

### 3.4.3 Definisi Operasional

#### 3.4.3.1 Definisi Operasional variable bebas

Sumur gali adalah lubang yang digali secara manual kedalam tanah untuk memanfaatkan air tanah (*Water table*).

Sumur bor adalah sumur yang dibangun dengan cara manual dengan menggunakan bor (*augers*).

#### 3.4.3.2 Definisi Operasional variable bebas

Hasil pemeriksaan bakteri *Escherichia coli* adalah ada tidaknya bakteri *Escherichia coli* pada Air sumur bor yang diperoleh dengan metode, dinyatakan;

1. Positif, (+) Jika ada bakteri *Escherichia coli* pada Air sumur bor.
2. Negatif, (-) Jika tidak ada bakteri *Escherichia coli* pada Air sumur bor.

Yang dinyatakan dengan skala nominal dan dilakukan dengan uji Chi-Square

### 3.5 Teknik Pengumpulan Data

Data dikumpulkan dengan melakukan pengujian laboratorium secara mikrobiologis. Langkah-langkah pengumpulan data adalah sebagai berikut.

#### 3.5.1 Persiapan Pengambilan Sampel

Alat : Botol air steril, Label, Tali, Api spirtus, alkohol.

Bahan : air sumur bor dan gali

##### 3.5.1.1 Sampel Air sumur Gali

Prosedur:

- a. siapkan botol steril yang sudah diikat dengan tali
- b. buka tutup botol seacara steril yaitu dengan api spirtus
- c. botol dimasukkan kedalam sumur gali hingga botol penuh dengan air sumur gali
- d. ditarik botol dengan tali
- e. dibuang air kurang lebih satu pertiga botol
- f. tutup botol dengan steril yaitu dengan api spirtus
- g. Berikan kode label pada sampel sesuai kode.

##### 3.5.1.2 Sampel sumur bor

Prosedur:

- a. disiapkan alat yang diperlukan
- b. bersihkan mulut kran dengan kapas alkohol hingga tak tersisa kotoran
- c. nyalakan air dan biarkan air mengalir beberapa menit hingga tidak ada kotoran yg keluaran bersama air.

- d. Buka tutup botol dengan steril yaitu dengan api spirtus dan lakukan steril pada kran seperti pada botol
- e. Masukkan air dari kran kedalam botol hingga penuh
- f. Botol ditutup dengan steril
- g. Berikan kode label pada sampel sesuai kode.

Semua botol yang sudah berisi sampel air sumur bor maupun air sumur gali dimasukkan ke wadah yang berisi es, sampel siap dibawa ke laboratorium.

### **3.5.2 Alat dan Bahan Pemeriksaan**

#### **3.5.2.1 Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah wadah air yang di beri kode sesuai kebutuhan, swab steril, autoclave, lemari es, incubator, hot plate, kompor gas, timbangan analitik, gelas ukur, pipet ukur, tabung reaksi, beaker glass, Erlenmeyer, cawan petri, sendok pengaduk, rak tabung, kertas pH, ose bulat, ose jarum, kertas aluminiumfoil.

#### **3.5.2.2 Media dan Reagensia**

Media dan reagensia yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Boilloun* (media pemupuk), *Eosin Methylene Blue Agar* (EMB Agar), media Biokimia Reaksi . Reagen *Methyl Red* (MR),  $\alpha$ -naftole 5% KOH 40%, Reagen Covac.

### **3.5.3 Proses Sterilisasi Alat dengan Autoclave**

Tujuan :

Untuk mensterilkan alat dan media yang akan digunakan untuk penelitian.

Prosedur:

1. Siapkan alat yang diperlukan untuk sterilisasi
2. Bungkus alat dengan aluminium foil dan diikat dengan karet
3. Kemudian autoclave diisi dengan air sesuai ukuran yang diperlukan, setelah itu masukkan alat yang sudah terbungkus dengan benar ke dalam autoclave
4. Setelah itu autoclave ditutup dengan cara bersebrangan dan bersamaan agar tertutup rapat dan uap yang ada di dalam tidak keluar melalui ruang yang tidak tertutup rapat
5. Salah satu klep dibuka
6. Kemudian dipanaskan autoclave di atas kompor elpiji dan biarkan air mendidih dengan tanda suara mendesis pada klep yang dibuka tadi.
7. Segera tutup klep dan tunggu hingga suhu mencapai  $121^{\circ}\text{C}$
8. Setelah suhu mencapai  $121^{\circ}\text{C}$  pertahankan suhu selama 15 menit dengan tekanan 1.5 atm, apabila suhu naik maka turunkan dengan cara klip pengaman dibuka-tutup secara perlahan agar uap air dalam autoclave keluar sehingga suhu stabil di  $121^{\circ}\text{C}$ .
9. Setelah 15 menit, matikan kompor elpiji dan klip udara dibuka secara perlahan sampai mencapai 0 lb agar alat-alat gelas yang terdapat di dalam autoclave tidak pecah.
10. Lalu buka pengunci autoclave dengan cara bersebrangan dan bersamaan, kemudian keluarkan alat-alat gelas yang sudah di steril.
11. Lalu letakkan alat-alat gelas pada wadah yang sudah tersedia.
12. Alat-alat gelas yang sudah disteril siap digunakan.

#### **3.5.4 Prosedure Pembuatan Media**

### 3.5.4.1 Media *Bouillon*

Tujuan : Untuk membiakkan Bakteri agar mudah diidentifikasi

- 1) Menyiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan

Bahan :

Beef ekstact, Pepton , NaCl, Aquadest

- 2) Di timbang bahan yang dibutuhkan (30 erlemeyer, 1 erlemeyer 10 ml)

$$\text{Pepton} : \frac{10 \text{ gram}}{1000} \times 300 \text{ ml} = 3 \text{ gram}$$

$$\text{Beef ekstrak} : \frac{3 \text{ gram}}{1000} \times 300 \text{ ml} = 0.9 \text{ gram}$$

$$\text{NaCl} : \frac{5 \text{ gram}}{1000} \times 300 \text{ ml} = 1.5 \text{ gram}$$

- 3) Dilarutkan bahan-bahan kedalam beaker glass dengan Aquadest sesuai perhitungan.
- 4) Kemudian di panaskan dengan alat pemanas (*Hot Plate*) sampai larut sempurna.
- 5) Di suam-suam dan kemudian dicocokkan dengan kertas pH, pH yang digunakan adalah 7,2-7,4.
- 6) Dituang kedalam erlenmeyer, masing-masing sebanyak 10 ml. Dan tutup dengan kapas
- 7) Semua erlenmeyer ditutup dengan menggunakan aluminium foil dibagian atas dan diikat dengan karet.
- 8) Masukkan ke autoclave dengan suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit
- 9) Media siap digunakan

### 3.5.4.2 Media *Eosin Methylene Blue Agar (EMB Agar)*

Prosedur :

- 1) Menyiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan

Bahan :

*Eosin Methylene Blue* (EMB), Aquadest.

- 2) Ditimbang media *Eosin Methylen Blue* (EMB), (30 plate, 1plate 15 ml)

$$\text{Perhitungan } \frac{36 \text{ gram}}{1000} \times 450 = 16.2 \text{ gram}$$

- 3) Dilarutkan bahan-bahan kedalam beaker glass dengan Aquadest sesuai 450 ml.
- 4) Kemudian di panaskan dengan alat pemanas (*Hot Plate*) sampai larut sempurna.
- 5) Di dinginkan dan kemudian dicocokkan dengan kertsas pH, pH yang digunakan adalah 7,2.
- 6) Dituang kedalam cawan petri, masing-masing sebanyak 15 ml. Dan tutup dengan kapas
- 7) Semua cawan petri ditutup dengan menggunakan aluminium foil dan diikat dengan karet.
- 8) Masukkan ke autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit.

#### **3.5.4.3 Media Biokimia Reaksi**

A. Gula-gula

Prosedur :

- 1) Menyiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan

Bahan :

Glukosa, laktosa, sukrosa, maltosa, mannose, Pepton, *Bromtimol blue* (BTB), Aquadest.

- 2) Ditimbang media glukosa (30 tabung, 1 tabung 5 ml)

Perhitungan  $\frac{1 \text{ gram}}{100} \times 150 = 1.5 \text{ gram}$

3) Dibuat air pepton terlebih dahulu

a) Hitung air pepton yang dibutuhkan yaitu : (150 ml x 5 = 750 ml )

Perhitungan :  $\frac{25.5}{1000} \times 750 \text{ ml} = 19.1 \text{ gram}$

b) Dipanaskan dengan alat pemanas (*Hot Plate*) sampai larut sempurna.

c) Setelah itu suam-suam dan dicocokkan dengan kertas pH, pH yang diinginkan adalah 7.4.

4) Kemudian Air pepton dituangkan kedalam beaker glass yang sudah berisi gula-gula

5) Ditambah dengan indikator *Bromtimol blue* (BTB) 0.4 % kedalam media gula-gula.

6) Dituang kedalam Tabung Reaksi yang sudah diisi dengan tabung durham, masing-masing sebanyak 5 ml. Dan tutup dengan kapas

7) Semua Tabung reaksi ditutup dengan menggunakan aluminium foil dan diikat dengan karet.

8) Masukkan ke autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit.

9) Media siap digunakan.

B. Indol

Tujuan :

Untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memecah asam amino trifosphanase menjadi indol.

Prosedur :

1) Menyiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan

Bahan :

Pepton, *Natrium Clorida* (NaCl), Aquadest

2) Ditimbang media indol (30 tabung, 1 tabung 5 ml)

$$\text{Perhitungan } \frac{25,5 \text{ gram}}{1000} \times 150 = 3.8 \text{ gram}$$

3) Dilarutkan bahan-bahan kedalam beaker glass dengan Aquadest sesuai perhitungan.

4) Kemudian di panaskan dengan alat pemanas (*Hot Plate*) (sampai larut sempurna.

5) Di suam-suam dan kemudian dicocokkan dengan kertas pH, pH yang digunakan adalah 7,1.

6) Dituang kedalam tabung, masing-masing sebanyak 5 ml. Dan tutup dengan kapas.

7) Semua erlenmeyer ditutup dengan menggunakan aluminium foil dibagian atas dan diikat dengan karet.

8) Masukkan ke autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit.

9) Media siap digunakan.

C. *Voges Pascauer* (VP) dan *Methyl Red* (MR)

Tujuan :

a) *Voges Pascauer* (VP) : untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan acetone.

b) *Methyl Red* (MR) : untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan asam campuran.

Prosedur :

- 1) Menyiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan

Bahan :

Pepton, Glukosa,  $K_2HPO_4$ , Aquadest.

- a. Ditimbang *Voges Pascauer* (VP) dan *Methyl Red* (MR), (60 tabung, 1 tabung 4 ml)

Perhitungan :

$$\text{Glucosa} : \frac{0,5 \text{ gram}}{80} \times 240 = 1.5 \text{ gram}$$

$$K_2HPO_4 : \frac{0,5 \text{ gram}}{80} \times 240 = 1.5 \text{ gram}$$

$$\text{Pepton} : \frac{0,5 \text{ gram}}{80} \times 240 = 1.5 \text{ gram}$$

- 2) Dilarutkan bahan-bahan kedalam beaker glass dengan Aquadest sesuai perhitungan.
- 3) Kemudian di panaskan dengan alat pemanas (*Hot Plate*) sampai larut sempurna.
- 4) Di suam-suam dan kemudian dicocokkan dengan kertsu pH, pH yang digunakan adalah 7,1.
- 5) Dituang kedalam tabung, masing-masing sebanyak 5 ml. Dan tutup dengan kapas.
- 6) Semua erlenmeyer ditutup dengan menggunakan aluminium foil dibagian atas dan diikat dengan karet.
- 7) Masukkan ke autoclave dengan suhu  $121^\circ C$  selama 15 menit.
- 8) Media siap digunakan.

D. Semi Solid

Prosedur :

- 1) Menyiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan

Bahan :

Pepton , NaCl, Bacto Agar, Aquadest.

- 2) Ditimbang media Semi solid (30 tabung, 1 tabung 5 ml)

Perhitungan

$$\text{Pepton from meat} : \frac{5 \text{ gram}}{1000} \times 150 = 0.75 \text{ gram}$$

$$\text{Media NaCl} : \frac{5 \text{ gram}}{1000} \times 150 = 0.75 \text{ gram}$$

$$\text{Media Agar Bacto} : \frac{3 \text{ gram}}{1000} \times 150 = 0.45 \text{ gram}$$

- 3) Dilarutkan bahan-bahan kedalam beaker glass dengan Aquadest sesuai perhitungan.
- 4) Kemudian di panaskan dengan alat pemanas (*Hot Plate*) sampai larut sempurna.
- 5) Di suam-suam dan kemudian dicocokkan dengan kertsu pH, pH yang digunakan adalah 7.6.
- 6) Dituang kedalam tabung, masing-masing sebanyak 5 ml. Dan tutup dengan kapas
- 7) Semua erlenmeyer ditutup dengan menggunakan aluminium foil dibagian atas dan diikat dengan karet.
- 8) Masukkan ke autoclave dengan suhu 1210C selama 15 menit
- 9) Setelah dari autoclave media dibiarkan sampai memadat.
- 10) Media siap digunakan

E. *Cimon Citrat*

Prosedur :

- 1) Menyiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan

Bahan :

Simon citrat , Aquadest.

2) Ditimbang media Simon citrat (30 tabung, 1 tabung 3 ml)

$$\text{Perhitungan } \frac{22.5 \text{ gram}}{1000} \times 90 = 2.025 \text{ gram}$$

3) Dilarutkan bahan-bahan kedalam beaker glass dengan Aquadest sesuai perhitungan.

4) Kemudian di panaskan dengan alat pemanas (*Hot Plate*) sampai larut sempurna.

5) Di suam-suam dan kemudian dicocokkan dengan kertsu pH, pH yang digunakan adalah 7,8.

6) Dituang kedalam tabung, masing-masing sebanyak 3 ml. Dan tutup dengan kapas

7) Semua erlenmeyer ditutup dengan menggunakan aluminium foil dibagian atas dan diikat dengan karet.

8) Masukkan ke autoclave dengan suhu 1210C selama 15 menit

9) Setelah dari autoclave media dimiringkan sampai terbentuk lereng.

10) Media siap digunakan

F. Urea

Prosedur :

1) Menyiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan

Bahan :

Base urea, Aquadest, Handstoff, Aquades steril.

2) Ditimbang media urea agar dan hanstoof (30 tabung, 1 tabung 3 ml)

Perhitungan

$$\text{Urea Agar : } \frac{21 \text{ gram}}{1000} \times 90 = 1.9 \text{ gram}$$

$$\text{Handstoff} : \frac{0,5 \text{ gram}}{80} \times 3 = 0.1 \text{ gram}$$

- 3) Dilarutkan bahan-bahan kedalam beaker glass dengan Aquadest sesuai perhitungan.
- 4) Kemudian di panaskan dengan alat pemanas (Hot Plate) sampai larut sempurna.
- 5) Di suam-suam dan kemudian dicocokkan dengan kertas pH, pH yang digunakan adalah 7,0, kemudian sterilkan di dalam autoclave.
- 6) Ditimbang handstoff dan dilarutkan dengan aquadest steril.
- 7) Setelah base urea steril, kemudian campur dengan handstoff .
- 8) Setelah dicampur sempurna media dituang kedalam tabung sebanyak 3 ml dan dimiringkan sampai terbentuk lereng.
- 9) Media siap digunakan.

#### G. Triple Sugar Iron Agar (TSIA)

Tujuan :

Untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan gas  $H_2S$  dan memfermentasikan karbohidrat.

Prosedur :

- 1) Menyiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan

Bahan :

*Triple Sugar Iron Agar (TSIA)* , Aquadest.

- 2) Ditimbang media indol (30 tabung, 1 tabung 4 ml)

$$\text{Perhitungan} \frac{65 \text{ gram}}{1000} \times 120 = 7.8 \text{ gram}$$

- 3) Dilarutkan bahan-bahan kedalam beaker glass dengan Aquadest sesuai perhitungan.  
dicocokkan dengan
- 4) Kemudian di panaskan dengan alat pemanas (*Hot Plate*) sampai larut sempurna.
- 5) Di suam-suam dan kemudian kertsu pH, pH yang digunakan adalah 7,2-7,4.
- 6) Dituang kedalam tabung, masing-masing sebanyak 3 ml. Dan tutup dengan kapas
- 7) Semua erlenmeyer ditutup dengan menggunakan aluminium foil dibagian atas dan diikat dengan karet.
- 8) Masukkan ke autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit
- 9) Setelah dari autoclave media dimiringkan sampai terbentuk lereng dan dasar.
- 10) Media siap digunakan

### **3.5.5 Pemeriksaan sampel air**

#### **3.5.5.1 Prinsip pemeriksaan**

Identifikasi *Escherichia coli* dengan cara dipupuk pada media bouillon, dan kemudian diinokulasikan pada media Eosin Methylene Blue (EMB) di inkubasi pada suhu 37<sup>0</sup> C selama 24 jam (fardiaz, 1993).

#### **3.5.5.2 Bahan pemeriksaan dan Reagen Pemeriksaan**

- a) Sampel pemeriksaan : Air sumur bor dan gali

b) Media : *Bouillon, Eosyn Methylen Blue*, Gula-gula ( Glukosa, Laktosa, Sukrosa, Maltosa, Mannosa), Indol, *Voges Pascauer* (VP) dan *Methyl Red* (MR), Semi solid, *Simon citrat*, Urea, *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA). Reagen *Methyl Red* (MR),  $\alpha$ -naftole 5%, KOH 40%, Reagen Covac.

### 3.5.5.3 Prosedur pemeriksaan

#### 1) Hari Pertama

Bahan dibiakkan pada Media pemupuk

Prosedur:

- a. Disiapkan sampel dan erlenmeyer yang berisi 10ml media Bouillon.
- b. Dipipet 90 ml sampel air sumur bor dan gali sesuai kode sampel kemudian dicampur dengan 10 ml media Bouillon.
- c. Dikocok hingga homogen
- d. Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

#### 2) Hari Kedua

Dari media pemupuk kemudian di tanam pada media *Diferensial Eosin Methylen Blue* (EMB).

Prosedur :

- a. Media Bouillon dikeluarkan dari incubator, kemudian menyiapkan media *Eosin Methylen Blue* (EMB) dan Alat yang diperlukan.
- b. Sampel pada media Bouillon dikocok kemudian diambil sampel sebanyak satu mata ose dan tanam pada media *Eosin Methylen Blue* (EMB), dilakukan didekat api.
- c. Setelah sampel ditanam, media *Eosin Methylen Blue* (EMB) di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

### 3) Hari ketiga

#### A. Penanaman pada media Biokimia Reaksi

Pada media *Eosin Methylen Blue* (EMB) ambil koloni yang bersifat *metallic sheen* untuk ditanam pada media gula-gula dan biokimia reaksi

##### a) Prosedur penanaman pada media Gula-gula, *Voges Pascauer* (VP) dan *Methyl Red* (MR),

Indol :

- a. Dikeluarkan media *Eosin Methylen Blue* (EMB) dari incubator dan siapkan media Gula-gula, *Voges Pascauer* (VP) dan *Methyl Red* (MR), Indol.
- b. Dari media *Eosin Methylen Blue* (EMB) cari koloni yang bersifat *metallic sheen* kemudian diambil dengan menggunakan ose bulat.
- c. Koloni tersebut ditanam pada media Gula-gula dengan cara di gesekkan pada dinding tabung.
- d. Dilakukan cara yang sama pada media *Voges pascauer* (VP) dan *Methyl Red* (MR), Indol.
- e. Kemudia di inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C.

##### b) Prosedur penanaman pada media *Simon Citrat* dan Urea

- a. Disiapkan media *Simon Citrat* dan Urea.
- b. Dari media *Eosin Methylen Blue* (EMB) cari koloni yang bersifat *metallic sheen* kemudian diambil dengan menggunakan ose bulat.
- c. Koloni tersebut ditanam pada media *Simon Citrat* dengan cara di gesekkan pada bagian lereng.
- d. Dilakukan cara yang sama pada media Urea.
- e. Kemudian di inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C.

- c) Prosedur penanaman pada media Semi solid
- Disiapkan media Semi Solid.
  - Dari media *Eosin Methylen Blue* (EMB) cari koloni yang bersifat *metallic sheen* kemudian diambil dengan menggunakan ose jarum.
  - Koloni tersebut ditanam pada media Semi Solid dengan cara di tusukkan pada bagian tengah media tetapi tidak menyentuh dasar media.
  - Kemudia di inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C.
- d) Prosedur penanaman pada media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)
- Disiapkan media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA).
  - Dari media *Eosin Methylen Blue* (EMB) cari koloni yang bersifat *metallic sheen* kemudian diambil dengan menggunakan ose jarum.
  - Koloni tersebut ditanam pada media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) dengan cara di tusukkan pada bagian tengah media dan digesek pada bagian lereng media.
  - Kemudia di inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C.
- 4) Hari ke Empat
- Pengamatan hasil pada media biokimia reaksi
- Pada media Gula-gula  
Media berubah warna menjadi kuning dan terbentuk gas pada tabung durham.
  - Pada media *Voges Pascauer* (VP)  
Apabila ditambah 3 tetes  $\alpha$ -nafttol dan 1 tetes KOH tidak terbentuk cincin merah.
  - Pada media *Methyl Red* (MR).  
Apabila ditambah 3 tetes reagen *Methyl Red* (MR), akan terbentuk warna merah.
  - Pada media Semi Solid

Pada media Semi Solid positif apabila terbentuk seperti awan.

e. Pada media *Simon Citrat*

Media tetap pada warna awal atau hasilnya negative.

f. Pada media Urea

Media tetap pada warna awal atau hasilnya negative.

g. Pada media Indol

Apabila ditambah  $\pm$  3 tetes reagen covac maka terbentuk cincin merah.

h. Pada media *Triple Sugar Iron Agar (TSIA)*

Lereng : acid  
Dasar : acid  
H<sub>2</sub>S : negatif  
Gas : negative

### 3.6 Analisis Data

Data dianalisis dengan menggunakan uji statistik yaitu uji Chi-Square dengan tingkat kesalahan 5 % atau 0,05.

**Tabel 3.1 Contoh Tabulasi Data Hasil Pemeriksaan Bakteri *Escherichia coli* pada air sumur gali dan bor di desa Tebul Timur Kabupaten Pamekasan Madura**

Jumlah sampel	Jenis sumur	
	Sumur gali	Sumur bor
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		
12		
13		

14		
15		
Jumlah		



Skema 3.1 pemeriksaan bakteri *Escherichia coli* pada air sumur bor dan gali

**SKEMA PEMERIKSAAN BAKTERI *Escherichia coli* PADA SUMUR GALI DAN BOR**

**HARI PERTAMA**



Sampel ditanam pada media *bouillon* dengan pebandingan 1 : 9  
10 ml bouillon : 90 ml air sumur inkubasi 24 jam dengan suhu 37<sup>0</sup> C



**HARI KEDUA**

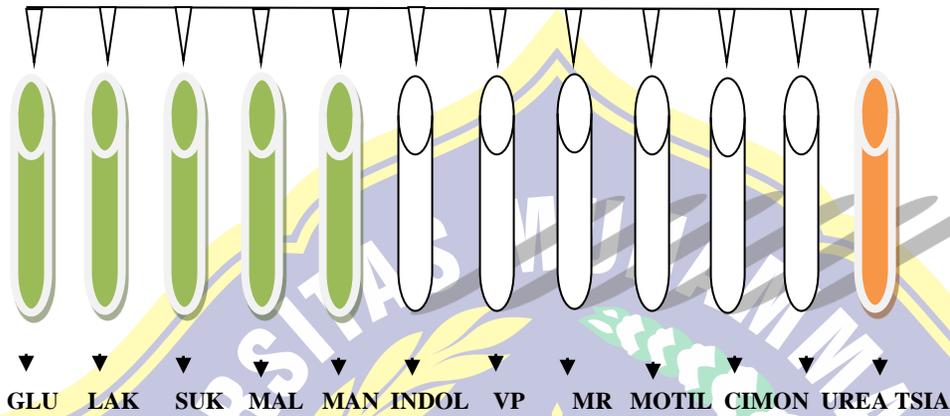


Sampel ditanam pada *media Eosin methylen blue (EMB)* inkubasi selama 24 jam dengan

suhu 37 °C



HARI KETIGA



Koloni yang bersifat metallic shin di ambil dan tanam pada media biokimia reaksi dan

inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C



## HARI KE EMPAT

Pembacaan pada media biokimia reaksi

