

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah deskriptif dengan tujuan untuk mengetahui kualitas air minum secara mikrobiologi pada air minum gentong di kompleks Makam Sunan Ampel Surabaya berdasarkan analisis *MPN Coliform*.

3.2 Populasi dan Sampel

3.2.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah air minum pada gentong di sekitar kompleks Makam Sunan Ampel Surabaya. Dari hasil pengamatan, ada 11 Gentong air minum yang berada di sekitar kompleks makam.

3.2.2 Sampel

Jumlah sampel sebanyak 33 sampel. Sampel diperoleh dari 11 gentong, yang diamati sebanyak 3 kali karena untuk mencukupi kuota minim 30 sampel sebagai syarat pemeriksaan penelitian deskriptif. Tahap pertama pada saat pagi hari pukul 06.00 pada hari ke-1. Tahap kedua pada saat siang pukul 14.00 pada hari ke-6. Tahap ketiga pada saat malam pukul 21.00 pada hari ke-11.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.3.1 Lokasi Penelitian

Pengambilan sampel di air minum pada 11 Gentong dekat Makam Sunan Ampel. Pemeriksaan mikrobiologi secara analisa *MPN Coliform* dilakukan di

Laboratorium Mikrobiologi Prodi D3 Analis Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya bertempat di jalan Sutorejo 59 Surabaya.

3.3.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-Juli 2013.

3.3.3 Waktu Pemeriksaan Sampel

Pemeriksaan sampel uji dilaksanakan pada tanggal 20 April – 5 Mei 2013.

3.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

3.4.1 Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini adalah kualitas air minum gentong berdasarkan nilai *MPN Coliform*

3.4.2 Definisi Operasional

Kualitas mikrobiologi dalam penelitian ini ditetapkan berdasarkan nilai *MPN Coliform*. Data kualitas dikategorikan menjadi:

- a) Memenuhi Syarat (MS) Permenkes 492/Menkes/Per/IV/2010 bila hasil pemeriksaan : 0 per 100 ml sampel air.
- b) Tidak Memenuhi Syarat (TMS) Permenkes 492/Menkes/Per/IV/2010 bila hasil pemeriksaan: > 0 per 100 ml sampel air.

Permenkes 492/Menkes/Per/IV/2010 tentang Persyaratan Kualitas Air Minum adalah batas maksimum yang diperbolehkan untuk Total Bakteri Koliform/*MPN Coliform* ialah 0 per 100 ml sampel.

3.5 Metode Pengumpulan Data

Data kualitas air minum berdasarkan analisa *MPN Coliform* dikumpulkan di Laboratorium. Adapun langkah-langkahnya:

3.5.1 Pengambilan sampel

1) Alat: Botol plastik bersih/kaca steril (sebaiknya botol kaca karena bisa di autoclave) ukuran 250 ml, Tali wool, Pemberat/batu, Label/etiket, Spidol marker

2) Prosedur Pengambilan sampel:

1. Botol yang akan dipergunakan untuk mengambil sampel dibersihkan dulu dan disteril (di-autoclave).
2. Botol yang telah diberi tali dan pemberat ditenamkan pada air yang akan diperiksa.
3. Pengambilan pertama sampel air digunakan untuk mensuasanakan botol sampling, kemudian air dibuang.
4. Pengambilan kedua merupakan sampel air yang akan diperiksa ke dalam botol sampel untuk kemudian ditutup.
5. Beri etiket/label tulis dengan spidol marker, pemeriksaan harus sudah dikerjakan dalam waktu kurang dari 24 jam sejak saat pengambilan.

3.5.2 Tes Penduga dan Tes Penegasan

1) Prinsip Pemeriksaan:

Pemeriksaan menggunakan metode MPN (Most Probable Number) menggunakan medium cair Lactose Broth di dalam tabung reaksi sebagai uji nilai nilai duga terdekat, di mana perhitungan dilakukan berdasarkan jumlah tabung positif ditandai dengan produksi gas di dalam tabung Durham setelah diinkubasi

pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Tabung berisi Lactose Broth yang positif dilanjutkan dengan uji penegasan menggunakan medium cair Brilliant Green bile Lactose Broth (BGLB) di dalam tabung reaksi sebagai Uji Penegasan.

2) Alat dan bahan

A) Alat: Neraca Analitik 1 buah, Tabung reaksi ukuran besar 16 buah, Tabung Durham 16 buah, Gelas arloji 2 buah, Rak tabung reaksi 2 buah, Spatula, Beaker glass 1.000 ml & 250 ml, Autoclave, Pipet ukur 10 ml 1 buah, Pipet Pastur, Gelas ukur, Api spiritus & kaki tiga, Filler, Kapas (untuk tutup tabung), Indikator pH.

B) Bahan: Media Lactose Both, Media BGLB, Aquades, NaOH 0,1 N, HCl 0,1 N, Aquades steril (untuk kontrol) dan Sampel air minum gentong Minim 200 ml.

3) Prosedur Kerja (Departemen Kesehatan RI, 1991)

Membuat Media Lactose Broth:

Media LB dibagi 2 yaitu, Lactose Broth II dan Lactose Broth I

Lactose Broth II:

1. Menimbang serbuk Lactose Broth sesuai takaran di neraca analitik sesuai etiket di media, misalnya di etiket tercantum 13 gram Lactose Broth dalam 1.000 ml aquades, maka perhitungannya:

$$\frac{13}{1000} \times 70 \text{ ml} = 0,91 \text{ gr} \times 2 = 1,82 \text{ gr}$$

2. Memanaskan sambil aduk perlahan hingga homogen di beaker glass
3. Mensuasanakan dengan nilai pH: $6,9 \pm 0,2$. Ukur dengan kertas pH, bila keadaan media terlalu asam tambahkan NaOH 0,1 N dan bila terlalu basa tambahkan HCl 0,1 N. Ukur kembali dengan kertas pH.

4. Menuang media ke 5 tabung reaksi yang telah ditakar 10 ml lalu beri tabung durham di dalamnya lalu bolak-balikkan tabung reaksi agar tabung durham tidak terisi gelembung udara, tutup dengan kapas (deret tabung kekuatan ganda), dan satunya untuk Kontrol.
5. Membungkus dengan koran lalu sterilkan dengan menggunakan autoclave, sterilkan pada temperatur 121°C selama ± 15 menit.

Lactose Broth I:

1. Menimbang serbuk Lactose Broth sesuai takaran di neraca analitik sesuai etiket di media, misalnya di etiket tercantum 13 gram Lactose Broth dalam 1.000 ml aquades, maka perhitungannya:

$$\frac{13}{1000} \times 40 \text{ ml} = 0,52 \text{ gr}$$

2. Memanaskan sambil aduk perlahan hingga homogen di beaker glass.
3. Mensuasanakan dengan nilai pH: $6,9 \pm 0,2$. Mengukur dengan kertas pH, bila keadaan media terlalu asam tambahkan NaOH 0,1 N dan bila terlalu basa tambahkan HCl 0,1 N. Ukur kembali dengan kertas pH.
4. Menuang media ke 2 tabung reaksi yang telah ditakar 10 ml lalu beri tabung durham di dalamnya lalu bolak-balikkan tabung reaksi agar tabung durham tidak terisi gelembung udara, tutup dengan kapas (deret tabung kekuatan ganda) dan satunya untuk Kontrol.
5. Membungkus dengan koran lalu sterilkan dengan menggunakan autoclave, sterilkan pada temperatur 121°C selama ± 15 menit.

Membuat Media BGLB:

1. Menimbang serbuk BGLB sesuai takaran di neraca analitik sesuai etiket di media, misalnya di etiket tercantum 40 gram BGLB dalam 1.000 ml aquades maka perhitungannya:

$$\frac{40}{1000} \times 90 \text{ ml} = 3,6 \text{ gr}$$

2. Memanaskan sambil aduk perlahan hingga homogen di beaker glass.
3. Mensuasanakan dengan nilai pH: $7,2 \pm 0,2$. Ukur dengan kertas pH, bila keadaan media terlalu asam tambahkan NaOH 0,1 N dan bila terlalu basa tambahkan HCl 0,1 N. Ukur kembali dengan kertas pH.
4. Menuang media ke 7 tabung reaksi yang telah ditakar 10 ml lalu beri tabung durham di dalamnya lalu bolak-balikkan tabung reaksi agar tabung durham tidak terisi gelembung udara, tutup dengan kapas dan satunya untuk Kontrol.
5. Membungkus dengan koran lalu sterilkan dengan menggunakan autoclave, sterilkan pada temperatur 121°C selama ± 15 menit.

Prosedur Kerja Tes Penduga dan Tes Penegasan (Departemen Kesehatan RI, 1991)

Hari Pertama:

1. Menyiapkan sampel air yang akan diperiksa.
2. Menyiapkan 5 tabung reaksi deret @ bervolume 10 ml LB II, 1 tabung deret tunggal-1 @ bervolume 10 ml LB I dan 1 tabung tunggal-2 @ bervolume 10 ml LB I. Serta 1 tabung LB II dan 1 tabung LB I untuk kontrol.
3. Memipet aquades steril 10 ml ke kontrol LB II dan 5 ml ke LB I memakai pipet ukur steril 10 ml.
4. Memipet sampel air dengan pipet ukur yg sama pada poin ke-3, sebelum memipet homogen-kan dulu sampel air. Lalu pipet ke:
 - 1) @ 10 ml sampel air ke 5 tabung deret ganda, lalu homogenkan
 - 2) @ 1 ml sampel air ke 1 tabung deret tunggal-1, lalu homogenkan
 - 3) @ 0,1 ml sampel air ke 1 tabung deret tunggal-2, lalu homogenkan.
5. Meng-inkubasikan pada suhu 37°C selama 48 jam.

Hari Ketiga:

1. Setelah 48 jam inkubasi, catat jumlah tabung hasil yang membentuk gas pada masing-masing deretan tabung media LB.
2. Tabung yang membentuk gas pada media tabung LB, ambil 1-2 mata ose dari media LB ke media BGLB untuk di-tes Konfirmasi. Inkubasi-kan selama 48 jam pada suhu 37°C.
3. Pakai kontrol BGLB (sampel air diganti dengan aquades steril)

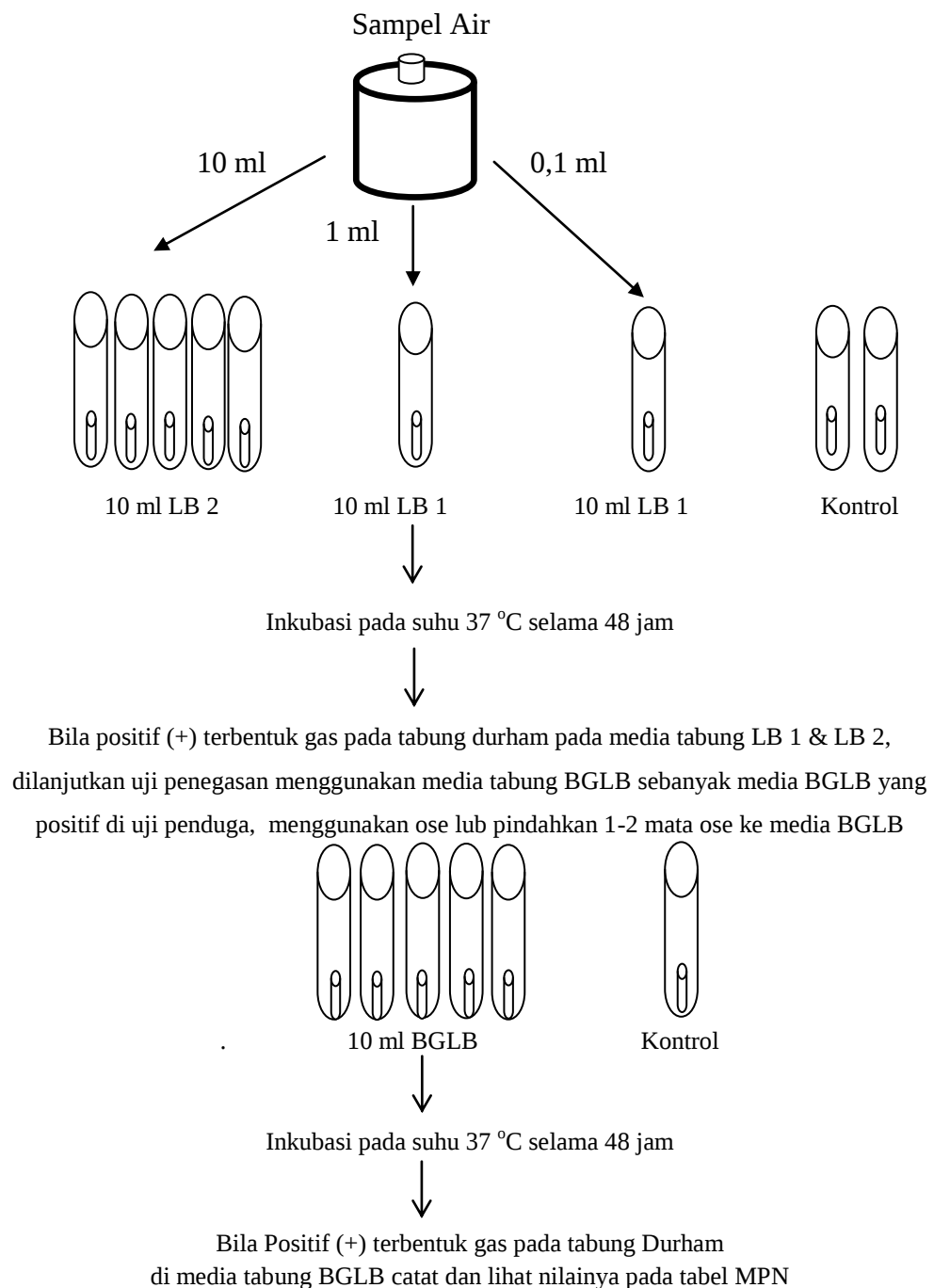
Hari Kelima

Mencatat tabung media berisi BGLB yang telah terbentuk gas. Cocokkan dengan tabel MPN (Most Probable Number) deret 5-1-1 di bawah ini.

Tabel 3.1 Daftar Nilai MPN (Departemen Kesehatan RI, 1991)

Daftar Nilai MPN, menggunakan 7 tabung			
Kombinasi/Jumlah tabung yang positif			MPN / 100 ml
10 ml	1 ml	0,1 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

Prosedur pemeriksaan yang telah dijelaskan di atas, telah kami sajikan lebih jelas dan singkat pada gambar 3.1 sebagai berikut:



Gambar 3.1 Skema Pemeriksaan Uji Pendugaan dan Uji Penegasan *MPN Coliform*

3.5.3 Penetapan hasil akhir

Penetapan hasil akhir diperoleh dari hasil pemeriksaan laboratorium menggunakan Uji *MPN Coliform* Uji Penduga dan Uji Penegasan lalu dimasukkan dalam tabulasi data:

Tabel 3.2 Form Hasil Pemeriksaan Uji *MPN Coliform* pada air minum Gentong

Air Minum Gentong				
Kode Sampel	Hasil Uji Penduga	Hasil Uji Penegasan	Nilai MPN Per 100 ml	MS / TMS
1-1				
2-1				
3-1				
4-1				
5-1				
6-1				
7-1				
8-1				
9-1				
10-1				
11-1				
1-2				
2-2				
3-2				
4-2				
5-2				
6-2				
7-2				
8-2				
9-3				
10-2				
11-2				
1-3				
2-3				
3-3				
4-3				
5-3				
6-3				
7-3				
8-3				
9-3				
10-3				
11-3				

Keterangan:

Misalnya: 1. Kode 1-1, berarti Gentong 1 pengambilan pertama

2. Kode 1-2, berarti Gentong 1 pengambilan kedua

3. Kode 1-3, berarti Gentong 1 pengambilan ketiga

Pengambilan pertama ketika pagi hari pukul 06.00. Pengambilan kedua ketika siang hari pukul 14.00 dan pengambilan ketiga ketika malam hari pukul 21.00.

1. MS : Memenuhi Syarat, apabila jumlah total bakteri koliform :
2 per 100 ml sampel air, menurut Permenkes
492/Menkes/Per/IV/2010 tentang Persyaratan Kualitas Air
Minum.
2. TMS : Tidak Memenuhi Syarat, apabila jumlah total bakteri koliform
: > 0 per 100 ml sampel air, menurut Permenkes
492/Menkes/Per/IV/2010 tentang Persyaratan Kualitas Air
Minum.

3.6 Metode Analisis Data

Setelah diperoleh hasil dalam bentuk tabel, data kemudian dianalisis berapa prosentase dari sampel air minum gentong berjumlah 33 sampel yang memenuhi syarat dan tidak memenuhi syarat dan dibuatkan diagram Pie.