

BAB III

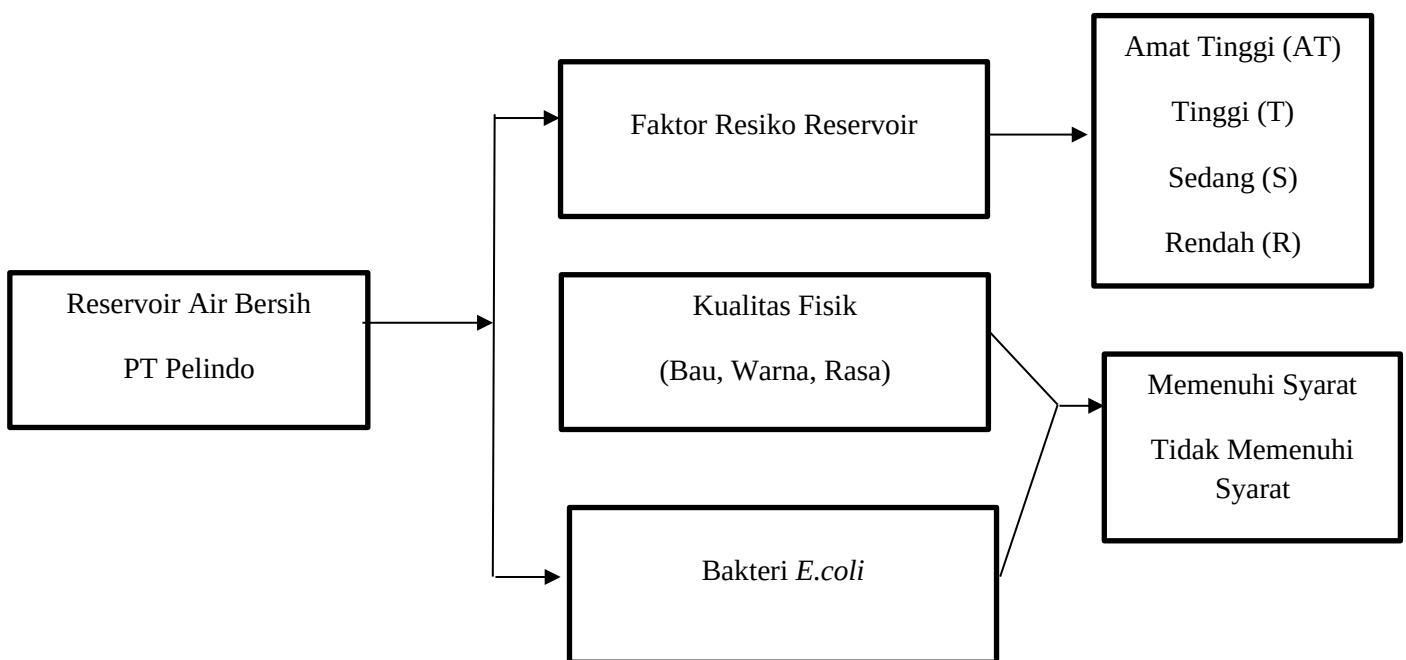
METODE PENELITIAN

A. Jenis Dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif. Penelitian dilakukan secara langsung di lapangan dan pada laboratorium mikrobiologi untuk mengetahui gambaran faktor resiko dan kualitas air bersih pada reservoir di PT Pelindo Kupang. Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian survey.

B. Kerangka Konsep

Kerangka konsep penelitian ini dapat dilihat pada diagram berikut:



Gambar 1. Kerangka Konsep

C. Variabel Penelitian

1. Faktor Resiko Reservoir
2. Kualitas Fisik Air (Bau, Warna, Rasa)
3. Kualitas Bakteriologis (*E. coli*)

D. Definisi Operasional

Definisi operasional dalam penelitian ini dapat dijelaskan dalam tabel berikut ini :

Tabel 1 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Kriteria Objektif	Skala	Alat Ukur
A	Faktor Resiko Reservoir	Kondisi yang meningkatkan kemungkinan terjadinya masalah pada reservoir air bersih yang ada di PT Pelindo Kupang.	AT : > 75% T : 51-75% S : 25-50% R : < 25%	Ordinal	Checklist
2	Kualitas Fisik Air : - Bau - Warna - Rasa	Kualitas Fisik Air : - Kualitas bau dari air pada reservoir yang ada di PT Pelindo Kupang. - Kualitas warna dari air pada reservoir yang ada di PT Pelindo Kupang. - Kualitas rasa dari air pada reservoir ada di PT Pelindo Kupang.	Memenuhi syarat jika tidak berbau, tidak berwarna dan tidak berasa sedangkan Tidak memenuhi syarat jika berbau, berwarna dan berasa (Permenkes No. 2 Tahun 2023).	Nominal	Checklist
3	Kandungan Bakteri <i>E.coli</i>	Bakteri yang hidup di usus manusia dan hewan, sebagian besar tidak berbahaya, tetapi beberapa strain dapat menyebabkan infeksi dan gangguan pencernaan.dari air pada reservoir yang ada di PT Pelindo Kupang.	Memenuhi syarat jika hasilnya 0 CFU/100 ml sedangkan Tidak memenuhi syarat jika hasilnya > 0 CFU/100 ml (Permenkes No. 2 Tahun 2023).	Nominal	Pemeriksaan Laboratorium

Sumber : Data Primer, 2025

E. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah semua reservoir air bersih yang ada di PT. Pelindo Kupang Tahun 2025.

2. Sampel

Sampel dalam penelitian ini untuk sampel faktor resiko dan kualitas fisik air sebanyak 6 sampel (4 reservoir dan 2 pipa outlet) dan untuk pemeriksaan bakteri *E. coli* di laboratorium berdasarkan sampel dengan kategori tingkat resiko sedang dan rendah menurut hasil inspeksi kondisi sanitasi dan kualitas fisik air pada reservoir di PT Pelindo Kupang Tahun 2025.

F. Metode Pengumpulan Data

1. Jenis Data

a. Data Primer

Data yang diperoleh pada saat pemeriksaan di lapangan dan saat pemeriksaan di laboratorium yaitu hasil inspeksi sanitasi terhadap factor resiko dan kualitas air bersih pada reservoir di PT Pelindo Kupang yang diperoleh melalui pemeriksaan laboratorium.

b. Data Sekunder

Data yang diperoleh dari Kantor Kesehatan Pelabuhan (KKP) adalah data jumlah reservoir air bersih yang ada di PT Pelindo Kupang dan gambaran umum lokasi.

2. Tahap Persiapan Penelitian

- a. Survei pendahuluan lokasi penelitian akan dilakukan;
- b. perizinan administratif dan perizinan lokasi akan disiapkan dengan memperoleh izin lokasi; dan
- c. daftar periksa untuk mengevaluasi faktor risiko dan kualitas air bersih di waduk PT Pelindo Kupang akan disusun.
- d. Menyiapkan instrumen dan perlengkapan penelitian.

3. Tahap Pelaksanaan Penelitian

- a. Observasi lapangan tentang kualitas fisik air
 Jika kondisi lapangan pada kolom "Ya" terpenuhi, beri tanda centang (✓) untuk melengkapi daftar periksa. Gunakan kelima indra Anda untuk menandai (✓) pada kolom "Tidak" jika tidak memenuhi persyaratan.
- b. Pengambilan sampel air
 Prosedur berikut digunakan untuk mengambil sampel dari sumur yang telah digali dan ditemukan memiliki risiko kontaminasi rendah untuk memeriksa bakteri *E. coli*::
 - 1) Mensterilkan alat dan bahan untuk pengambilan sampel di lapangan
 - 2) Alat dan bahan yang digunakan :
 - a) Botol sampel steril
 - b) Api Bunsen
 - c) Cool box

- d) Kapas
 - e) Korek api
 - f) Alkohol
 - g) Kertas label
 - h) Tali
- 3) Kertas coklat
- 4) Prosedur pengambilan sampel di lapangan
- a) Siapkan peralatan dan perlengkapan.
 - b) Gunakan alkohol untuk membersihkan tangan Anda secara aseptik
 - c) Lepaskan tutup botol dan pembungkus botol sampel, lalu gunakan api Bunsen untuk mensterilkan pinggiran botol sambil menjauhkan tangan Anda dari dasar botol.
 - d) Selanjutnya, ambil sampel air. Tuangkan air ke dalam botol sampel hingga penuh
 - e) Setelah air penuh, buang sebagian ($1/4$) sehingga $3/4$ sisanya masih memenuhi standar uji mikrobiologi.
 - f) Gunakan tutup botol steril untuk menutup botol.
 - g) Beri label dengan semua informasi yang relevan (jenis sampel, tempat dan waktu pengambilan sampel, nama dan alamat pengirim).
 - h) Sampel disiapkan untuk analisis setelah vial sampel steril ditempatkan dalam kotak dingin.

c. Pemeriksaan di laboratorium

1) Uji Duga (*Presumptive Test*)

a) Alat

b)

(1) Tabung reaksi steril

(2) Tabung durham steril

(3) Rak tabung reaksi

(4) Pipet ukur 10ml dan 1ml steril 25

(5) Bunsen

(6) Bulp/pipet filter/penghisap

(7) Inkubator

c) Bahan :

(1) Sampel air

(2) Media LB1 dan LB3 steril (Lactose Broth)

(3) Alkohol

(4) Kapas

(5) Kertas label

(6) Korek api

c. Prosedur kerja

(1) Siapkan peralatan dan perlengkapan.

- (2) Bersihkan tangan dan meja kerja peserta praktikum dengan alkohol (secara aseptik). Aturan dan ketentuan kegiatan praktikum dalam mata kuliah sanitasi air
- (3) Nyalakan pembakar Bunsen.
- (4) Gunakan pipet ukur steril, teteskan (tambahkan) 10 ml sampel air ke dalam masing-masing dari lima tabung reaksi berisi media LB3 steril.
- (5) Gunakan pipet steril, teteskan (tambahkan) 1 ml sampel air ke dalam masing-masing tabung reaksi berisi media LB1 steril.
- (6) Dengan menggunakan pipet ukur steril, inokulasikan (masukkan) 0,1 ml sampel air ke dalam tabung reaksi yang berisi media LB 1 steril.
- (7) Beri label pada setiap tabung reaksi dengan jumlah sampel yang dimasukkan, yaitu 10 ml, 1 ml, dan 0,1 ml.
- (8) Simpan hewan dalam inkubator selama dua periode 24 jam pada suhu 37°C.
- (9) Awasi hewan setiap 24 jam dan catat gas yang terbentuk di tabung Durham. Hasil tes dianggap positif jika gas muncul dalam 24 jam; jika gas muncul setelah waktu tersebut, hasilnya diragukan. Hasil tes dianggap negatif jika tidak ada gas yang muncul setelah dua periode 24 jam. Tes

konfirmasi harus dilakukan jika terdapat hasil positif dan hasil yang diragukan.

2) Uji penetapan /Penegasan (*Confirmed Test*)

a) Alat :

- (1) Tabung reaksi steril
- (2) Tabung durham steril
- (3) Rak tabung
- (4) Jarum ose
- (5) Api Bunsen
- (6) Inkubator

b) Bahan :

- (1) Hasil uji duga positif /meragukan
- (2) Media EC Broth
- (3) Alkohol
- (4) Kapas
- (5) Kertas label
- (6) Korek api

c) Prosedur kerja

- (1) Siapkan alat dan bahan
- (2) Bersihkan (aseptiskan) meja kerja dan tangan praktikan menggunakan alcohol
- (3) Nyalakan bunsen

- (4) Bakar jarum ose sampe merah membara. Dinginkan sebentar.
- (5) Inokulasikan (masukkan) 2-3 mata ose spesimen dari hasil uji duga positif /meragukan ke dalam 10ml media BGLB steril
- (6) Beri label ada tabung sesuai dengan label hasil uji duga positif/meragukan
- (7) Inkubasikan piaraan dalam incubator
- (8) Untuk pemeriksaan E.coli :suhu 44-44,5°C selama 1x24 jam
- (9) Amati gelembung gas yang terjadi
- (10) Apabila terdapat gelembung gas dalam tabung durham maka hasilnya positif
- (11) Tuliskan hasil yang positif dan cocokan dengan tabel kombinasi MPN untuk mendapatkan angka kuman (jumlah coli/E.coli)
- (12) Untuk pemeriksaan E.coli dengan hasil positif maka bisa dilanjutkan dengan uji lengkap (compete test)

3).Uji Lengkap (*Complete Test*)

a) Alat :

- (1) Cawan petri steril
- (2) Jarum ose
- (3) Bunsen

(4) Inkubator

b) Bahan :

(1) Uji penegasan dengan hasil positif

(2) Media EMBA steril

(3) Media LB1 steril

(4) Alkohol

(5) Kapas

(6) Kertas label

(7) Korek api

c) Cara kerja

(1) Siapkan alat dan bahan

(2) Bersikan (aseptiskan) meja kerja dan tangan praktikan menggunakan alkohol pedomon dan panduan praktik peyediaan air

(3) Nyalakan Bunsen

(4) Buat piaraan jasad renik E.coli dari uji penegasan positif pada media agae cawan EMBA dengan cara : piaraan tuang (*pour plate*), piaraan sebaran (*spread plate*), piaraan goresan (*streak plate*) atau penananaman langsung (*direct plate*).

(5) Inkubasikan piaraan itu dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 2x24 jam

- (6) Amati pertumbuhan koloni pada permukaan agar itu adalah koloni tipikal. Apabila tampak koloni tipikal maka uji dinyatakan hasilnya positif
- (7) Buat piaraan cairan dalam media EC Broth dari koloni typikal tersebut dengan cara: mengambil dengan jarum ose steril 2 koloni typikal pada gambar EMBA dan segera dimasukan kedalam media LB 1 yang sudah disediakan
- (8) Inkubasikan piaraan itu dlam inkubator dengan suhu 37⁰C selama 2x24 jam
- (9) Amati dalam tabung durham setiap 24 jam apabila terbentuk gas maka hasilnya positif

G. Pengolahan Data

Kondisi sanitasi reservoir dilakukan pengamatan menggunakan formulir check list, kualitas fisik air (bau, warna, rasa) pengamatan menggunakan formulir check list dan kandungan bakteri *E.coli* dilakukan pemeriksaan pada laboratorium yang kemudian diolah menggunakan tabel dan dibandingkan dengan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2 Tahun 2023:

1. Faktor Resiko Reservoir

Skor Resiko Pencemaran : Amat Tinggi (AT): > 75%

: Tinggi (T) : 51-75%

: Sedang (S) : 25-50%

: Rendah (R) : < 25%

2. Kualitas Fisik Air (Bau, Warna, Rasa)

- a. Memenuhi syarat jika tidak berbau, tidak berwarna dan tidak berasa.
- b. Tidak memenuhi syarat jika berbau, berwarna dan berasa.

3. Kandungan Bakteri *E. coli*

- a. Memenuhi syarat jika hasilnya 0 CFU/100 ml.
- b. Tidak memenuhi syarat jika hasilnya > 0 CFU/100 ml.

H. Analisa Data

Data hasil penelitian dianalisa secara deskriptif dan dibandingkan dengan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2 Tahun 2023.