

BAB III

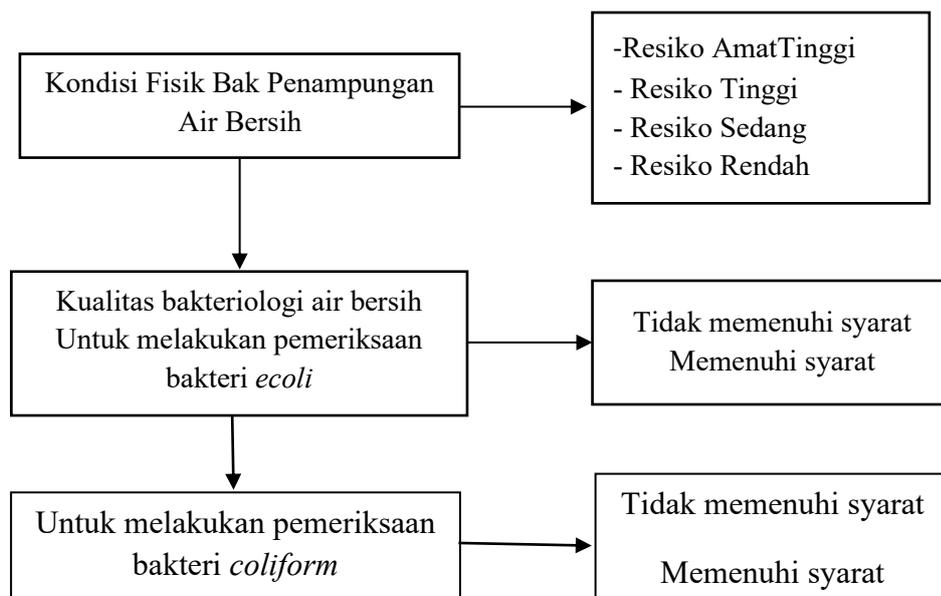
METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan pendekatan deskriptif yang memanfaatkan pengujian laboratorium untuk memperoleh data faktual terkait kualitas air bersih di Balai Kekarantinaan Kesehatan Kelas I Kupang pada Tahun 2025.

B. Kerangka Konsep Penelitian

Kerangka konsep penelitian dapat digambarkan sebagai berikut:



Gambar 1. Kerangka Konsep Penelitian

C. Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini adalah:

1. Kondisi fisik bak penampungan
2. Kualitas bakteri *ecoli*
3. Kualitas bakteri *coliform*

D. Definisi Operasional

Berdasarkan variabel penelitian diatas, maka dibuat definisi operasional sebagai berikut:

Tabel 1. Definisi Operasional

No	Variabel	Defenisi Operasional	Kriteria	Skala	Alat ukur
1.	Kondisi fisik bak penampungan	Menilai kondisi fisik bak penampungan terdiri dari: lantai kedap air, penutup, air dalam bak tampak jernih, terdapat kotoran, air tergenang dan sumber pencemaran	-Resiko amat tinggi (AT) jika jawaban “ya” lebih dari >75% -Resiko tinggi (T) jika jawaban “ya” antara 51- 75% -Resiko sedang (S) jik jawaban “ya” 25- 50% Resiko rendah (R) jika jawaban “ya” kurang dari <25%	Ordinal	Cheklist
2.	Kualitas bakteriologis E.coli	Kandungan bakteri E.coli bak penampungan air di wilayah kerja BKK	Memenuhi syarat yaitu: 0 CFU/100 ml Tidak memenuhi syarat yaitu: > 0 CFU/100 ml (Permenkes, No.02 Tahun 2023)	Nominal	Uji laboratorium
3.	Kualitas bakteriologis coliform	Kandungan bakteri coliform bak penampungan air di wikayah kerja BKK	Memenuhi syarat yaitu: 0 CFU/100 ml Tidak memenuhi syarat > 0 CFU/100 ml (Permenkes, No.02 Tahun 2023)	Nominal	Uji laboratorium

E. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini terdiri dari 4 unit bak penampungan air bersih yang berada di Balai Kekarantinaan Kesehatan Kelas I Wilayah Kerja Bandar Udara El Tari Kupang Tahun 2025.

2. Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah 4 bak penampungan (total populasi). Untuk sampel *E.coli* akan diambil dari tingkat resiko tinggi, sedang, dan resiko rendah.

F. Metode Pengumpulan Data

Jenis data yang digunakan dalam penelitian ini dibagi menjadi dua, yaitu data primer dan data sekunder.

1. Data Primer

Data primer diperoleh melalui hasil pengisian checklist yang dilakukan berdasarkan pengamatan langsung di lapangan. Pengamatan ini menggunakan lembar observasi berupa formulir inspeksi sanitasi terhadap bak penampungan air bersih yang telah disiapkan. Selain itu, data juga didukung oleh hasil pemeriksaan laboratorium terkait keberadaan bakteri *E.coli*

2. Data Sekunder

Data sekunder didapatkan dari Balai Kekarantinaan Kesehatan Kelas I Wilayah Kerja Bandar Udara El Tari Kupang, berupa informasi mengenai jumlah bak penampungan air bersih yang terdapat di wilayah kerja tersebut.

3. Pelaksanaan penelitian

1. Pemeriksaan Bakteriologis

a. Tahap Persiapan

- 1) Menentukan lokasi yang akan dijadikan tempat pelaksanaan penelitian
- 2) Melakukan survei awal ke lokasi penelitian
- 3) Menyiapkan administrasi berupa surat izin pelaksanaan penelitian
- 4) Menyiapkan seluruh alat dan bahan yang dibutuhkan selama proses penelitian berlangsung
- 5) Mempersiapkan alat laboraterium untuk pemeriksaan bakteriologis pada bak penempungan air bersih

b. Tahap Pelaksanaan

- 1) Melakukan penilaian kondisi fisik bak penampungan air bersih dengan cara menggunakan format IS dengan menghitung tingkat resiko bak penampungan.
- 2) Pengambilan sampel air bak penampungan

c. Alat dan bahan

- 1) Alat yang digunakan dalam penelitian
 - a) Botol sampel
 - b) Api bunsen
 - c) Cool box
 - d) Kertas label
 - e) Alat tulis
- 2) Bahan-bahan yang digunakan antara lain:
 - a) Sampel air dari bak penampungan
 - b) Korek api
 - c) Kapas
 - d) Alkohol
 - e) Kertas

d. Prosedur Kerja

1) Pengambilan Sampel

- a) Aseptisikan dengan alkohol
- b) Buka botol steril, kemudian lewati bibir botol melalui nyala api bunsen
- c) Ikat botol sampel dengan tali, lalu turunkan perlahan hingga bagian mulut botol masuk kedalam air selama minimal 20 cm.
- d) Setelah botol terisi penuh, angkat angkat kembali secara perlahan. Buang 1/3 isi air dari botol, dan sisakan sekitar $\frac{3}{4}$ bagian
- e) Tempelkan lebel pada botol dengan keterangan sebagai berikut:
 - (1) Nama dan alamat

- (2) Waktu dan tanggal pengambilan sampel
 - (3) Jenis sumber air
- f) Simpan botol sampel kedalam box berisi es batu, lalu segera bawa ke laboratorium untuk pemeriksaan lebih lanjut.
- 2) Pemeriksaan kandungan bakteri E.coli dalam sampel air dilakukan di laboratorium dengan menggunakan metode MPN.

Cara pemeriksaan baktererologis:

- a) Uji Duga

Alat yang digunakan:

- (1) Inkubator
- (2) Tabung reaksi steril
- (3) Beaker gelas
- (4) Api bunsen
- (5) Tabung durham
- (6) Pipet filter

Bahan yang digunakan:

- (1) Sampel air
- (2) Media LB1 dan LB3 (Lactose Broth)
- (3) Alkohol
- (4) Kapas
- (5) Kertas label korek api

Langkah kerja:

- (1) Siapkan alat dan bahan yang digunakan

- (2) Bersihkan meja kerja dengan kapas yang dibasahi alkohol untuk menjaga kebersihan area meja
- (3) Nyalakan api bunsen sebagai sumber sterilisasi
- (4) Masukkan sebanyak 10 ml sampel kedalam tiga tabung yang telah berisi media LB1 steril (Volume media LB1 sebanyak 5 ml)
- (5) Tambahkan 1 ml sampel kedalam tiga tabung lain yang juga telah berisi media LB1 steril.
- (6) Selanjutnya, masukan 0,1 ml sampel kedalam tiga tabung berikutnya yang berisi media LB1.
- (7) Inkubasi semua tabung tersebut di dalam inkubator pada suhu 37°c selama 2x24 jam.
- (8) Setelah masa inkubasi selesai, amati tabung durham. Jika terdapat gelembung gas, maka sampel tersebut dinyatakan positif mengandung bakteri.

b) Uji Penegasan

Alat yang digunakan:

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

Bahan yang digunakan:

- (1) Hasil uji duga
- (2) Media BGLB (Briliant Green Lactose Broth)
- (3) Alkohol
- (4) Kapas
- (5) Kertas label
- (6) Korek api

Langkah kerja

- (1) Siapkan seluruh alat dan bahan yang diperlukan
- (2) Bersihkan permukaan meja menggunakan kapas yang telah dibasahi alkohol
- (3) Nyalakan api bunsen untuk proses sterilisasi alat
- (4) Sterilkan jarum ose dengan cara membakar ujungnya di nyala api bunsen
- (5) Ambil dua kali ose dari sampel uji duga, lalu masukan kedalam tabung berisi media BGLB
- (6) Dekatkan mulut tabung pada api bunsen untuk menjaga sterilisasi
- (7) Tutup tabung dengan kapas, lalu kembali dekatkan ke api bunsen untuk mencegah kontaminasi
- (8) Beri label pada tabung sesuai hasil uji sebelumnya
- (9) Inkubasi tabung dalam inkubator selama 44° c sema 24 jam
- (10) Amati tabung durham, jika terdapat gelembung gas, maka hasilnya dinyatakan positif

- (11) Susun tabung reaksi yang menunjukkan hasil positif berdasarkan kode pengenceran (10 ml, 1 ml, 0,1 ml)
- (12) Sesuaikan hasil tersebut dengan tabel MPN untuk mendapatkan hasil pemeriksaan.

Cara Pemeriksaan Bakteri Coliform

a. Uji duga (Presumptive Test)

1) Alat yang digunakan:

- a) Tabung reaksi steril
- b) Tabung durham steril
- c) Rak tabung reaksi
- d) Pipet ukur steril ukuran 10 ml, dan 1 ml
- e) Bunsen
- f) Pipet filter atau bulp
- g) Inkubator

2) Bahan

- a) Sampel air
- b) Media LB1 dan LB3 steril
- c) Alkohol
- d) Kapas
- e) Kertas label
- f) Korek api

3) Prosedur kerja

- a) Persiapkan seluruh alat dan bahan yang akan digunakan
- b) Bersihkan meja kerja serta tangan praktikan dengan alkohol
sebagian tindakan aseptik
- c) Nyalakan bunsen untuk proses sterilisasi

- d) Masukkan masing-masing 10 ml sampel air kedalam tiga tabung yang berisi media LB1 steril menggunakan pipet steril
- e) Inkubasi masing-masing 1 ml sampel air kedalam tiga tabung yang berisi media LB1 steril menggunakan pipet steril
- f) Masukkan masing-masing 0,1 ml sampel kedalam tiga tabung lainnya yang berisi media LB3 steril dengan pipet steril
- g) Beri label pada setiap tabung sesuai volume sampel yang dimasukkan, yaitu 10 ml, 1 ml, dan 0,1 ml
- h) Inkubasikan tabung-tabung tersebut dalam inkubator pada suhu 37° c selama 2x24 jam
- i) Lakukan pengamatan setiap 24 jam, terutama pada tabung durham untuk melihat terbentuknya gelembung gas. Gas yang muncul dalam 24 jam menandakan hasil positif, sedangkan gas yang baru terbentuk setelah 24 jam dinyatakan meragukan. Apabila tidak ada gas setelah 2x24 jam, maka hasil dinyatakan positif.
- j) Untuk tabung yang menunjukkan hasil positif atau meragukan, pemeriksaan dilanjutkan ke tahap uji penegasan (Confirmed Test).
- k) Inkubasi dilakukan pada suhu 37° c selama 2x24 jam.

b) Uji penegasan (Confirmed Test)**1. Alat yang digunakan:**

- a) Tabung reaksi steril
- b) Tabung durham steril
- c) Rak tabung reaksi
- d) Jarum ose
- e) Bunsen
- f) Inkubator

2. Bahan yang digunakan:

- a) Sampel dari uji duga yang menunjukkan hasil positif atau meragukan
- b) Media *BGLB (Briliant Green Lactose Bile Broth)* steril
- c) Media *ECB (Escherichia coli Broth)*
- d) Alkohol
- e) Kapas
- f) Kertas label
- g) Korek api

3. Prosedur Kerja

- a) Siapkan alat dan bahan yang diperlukan
- b) Bersihkan meja kerja serta tangan praktikan dengan alkohol untuk menjaga sterilisasi
- c) Nyalakan bunsen sebagai langkah sterilisasi

- d) Bakar jarum ose hingga pijar merah, kemudian biarkan dingin sejenak
 - e) Lakukan inkubasi dengan mengambil 2-3 ose dari tabung positif atau hasil uji duga, lalu masukan kedalam dua tabung reaksi yang berisi media BGLB dan ECB steril. Proses ini disebut duplo karena dari satu tabung LB positif dipindahkan ke dua media yang berbeda
 - f) Beri label sesuai dengan hasil uji duga sebelumnya
 - g) Inkubasikan dalam inkubator pada suhu 37°c selama 2x24 jam
 - h) Amati terbentuknya gelembung gas pada tabung durham. Jika ada gas, maka hasil positif
 - i) Catat hasil positif dan cucukan dengan tabel kombinasi MPN untuk menentukan jumlah coliform
 - j) Jika hasil positif, dapat dilanjutkan dengan uji lengkap (Complete Test)
 - k) Inkubasi dilakukan pada suhu 37°c selama 2x24 jam
- c) Uji lengkap
- 1. Alat yang digunakan
 - a) Cawan petri steril
 - b) Jarum ose
 - c) Bunsen
 - d) Inkubator

2. Bahan

- a) Sampel dari uji penegasan yang dinyatakan positif
- b) Media MacConkey Agar (MC Agar) steril
- c) Media LB steril
- d) Alkohol
- e) Kapas
- f) Kertas label
- g) Korek api

3. Prosedur Kerja

- a) siapkan seluruh alat dan bahan yang digunakan
- b) Bersihkan meja kerja serta tangan praktikan dengan alkohol sebagai tindakan aseptik
- c) Nyalakan bunsen untuk menjaga sterilisasi alat selama bekerja
- d) Lakukan penanaman mikroorganisme coliform dari hasil positif uji penegasan ke media MacConkey agar menggunakan metode yang sesuai seperti pour plate, spread plate, streak plate, ataupun penanaman langsung
- e) Inkubasi media tersebut dalam inkubator pada suhu 37°C selama 2x24 jam
- f) Amati pertumbuhan koloni pada permukaan agar dan perhatikan adanya koloni khas coliform. Jika tampak koloni khas, maka uji dinyatakan positif
- g) Ambil dua koloni khas menggunakan jarum ose steril, kemudian inkubasikan ke dalam media cair LB1 yang telah disiapkan

- h) Inkubasi kembali ke dalam inkubator dalam suhu 37°c selama 2x24 jam
- i) Jika terbentuk gas dalam media cair laktosa dalam waktu 24 jam serta hasil pengecatan menunjukkan bakteri gram negatif, maka hasil pemeriksaan dinyatakan positif.

G. Pengolahan data

1. Pemeriksaan kembali data-data yang sudah dikumpulkan untuk melihat kelengkapannya
2. Menyajikan data-data dalam bentuk tabel
3. Untuk variabel tingkat resiko apabila tidak memenuhi syarat diberi tanda tidak.

Kemudian dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Presentase Tingkat Resiko} = \frac{\text{Jumlah Jawaban YA}}{\text{Jumlah Pertanyaan}} \times 100\%$$

Kriteria tingkat resiko:

Resiko amat tinggii (AT) = >75%

Resiko tinggi (T) = 51-75%

Resiko sedang (S) = 25-50% Resiko rendah (R) = <25%

H. Analisa Data

Setelah dilakukan inspeksi kesehatan lingkungan fisik bak penampungan air bersih dan analisa bak penampungan yang tidak memenuhi syarat dan pemeriksaan kualitas bakteriologis air bersih menggunakan deskriptif.