BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

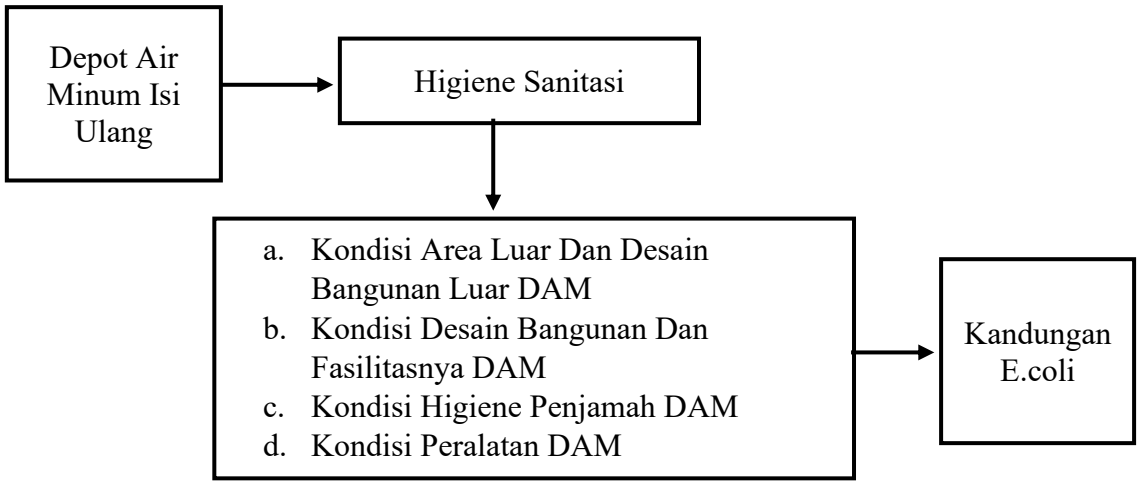
Jenis penelitian yang digunakan bersifat deskriptif. Yang bertujuan untuk mengetahui gambaran kondisi higiene sanitasi depot air minum isi ulang di Wilayah Kerja Puskesmas Batakte.

B. Rancangan Penelitian

Rancangan dalam penelitian ini adalah sampel yang diambil secara purposive sampling is a Non Probalility sampling dengan sampling jenis jenuh, hasil yang dapat di sajikan dalam bentuk tabel dan berikan check list.

A. Kerangka konsep

Kerangka konsep dibuat dalam bentuk bagan sebagai berikut :



Gambar 2. Kerangka konsep penelitian

B. Variabel Penelitian

1. Kondisi Area luar DAM
2. Desain bangunan dan fasilitas DAM
3. Kondisi Higiene penjamah DAM
4. Kondisi Peralatan DAM
5. Kandungan *Escherichia coli*

C. Defenisi Operasioal

Defenisi operasional dibuat dalam bentuk tabel sebagai berikut :

Tabel 2

Defenisi Operasional

No	Variabel penelitian	Defenisi Operasional	Alat Ukur	Kriteria	Skala
1.	Kondisi Area Luar DAM	Adalah penilaian kondisi area luar DAM dari lokasi yang bebas dari sumber pencemaran, bangunan, drainase, wastafel di DAM yang berada pada Wilayah Kerja Puskesmas Batakte	Formulir inspeksi sanitasi	1.Memenuhi syarat jika ≥ 80 2. tidak memenuhi syarat jika < 80	Nominal
2.	Desain bangunan dan fasilitas DAM	Adalah penilaian kondisi fasilitas DAM mulai dari langit-langit, dinding, lantai, pencahayaan,	Formulir inspeksi sanitasi	1.Memenuhi syarat jika ≥ 80 2. tidak memenuhi syarat jika < 80	Nominal

No	Variabel penelitian	Defenisi Operasional	Alat Ukur	Kriteria	Skala
		pengendalian vektor, bahan kimia, ventilasi, tempat sampah, kamar mandi, dan jamban.			
3.	Kondisi Higiene penjamah DAM	Adalah penilaian kondisi peralatan DAM mulai dari pipa, mikrofilter, sterilisasi,tando n air baku, pencucian,pengi sian, dan wadah galon.	Formulir inspeksi sanitasi	1.Memenuhi syarat jika ≥ 80 2. tidak memenuhi syarat jika < 80	Nominal
4.	Kondisi Peralatan DAM	Adalah penilaian setiap penjamah harus menjaga kesehatan, menggunakan APD, dan perilaku saat bekerja.	Formulir inspeksi sanitasi	1.Memenuhi syarat jika ≥ 80 2. tidak memenuhi syarat jika < 80	Nominal
5.	Kandung an *Escherich ia coli*	Pemeriksaan kandungan *Escherichia coli* pada air hasil olahan di DAM.	Pemeriksaan Laboratorium	1.Memenuhi syarat jika = 0 koloni/ml 2.tidak memenuhi syarat jika > 0 koloni/ml	Nominal

D. Populasi Dan Sampel

1. Populasi dalam penelitian ini terdiri dari 8 DAM yang berada di Wilayah Kerja Puskesmas Batakte.

Rumus perhitungan DAM setiap variabel

= 100 - (total ketidaksesuaian/ total skor)* 100

2. Sampel air pada penelitian ini adalah sebanyak 5 sampel air diambil dari DAM isi ulang sebagai bagian dari penelitian ini.

E. Metode Pengumpulan Data

1. Jenis Data

   a. Data Primer

      Data primer diperoleh dari hasil survei awal serta wawancara langsung selama proses observasi terhadap operasional dan pengolahan air di depot air minum isi ulang. Pengumpulan data dilakukan menggunakan instrument penilaian sesuai standar pada Permenkes No. 14 Tahun 2021 tentang depot air minum isi ulang.

   b. Data Sekunder

      Data sekunder mencakup informasi mengenai jumlah pelaku usaha depot air minum isi ulang yang terdaftar di Wilayah Kerja Puskesmas Batakte.

      Data sekunder meliputi data jumlah pengusaha depot air minum isi ulang di Wilayah Kerja Puskesmas Batakte.

2. Tahapan Pengumpulan Data

   a. Tahap Persiapan

      1) Mempersiapkan surat ijin

      2) Persiapan instrument penelitian

      3) Persiapan laboratorium.

   b. Tahap Pelaksanaan

1) Melakukan inspeksi kesehatan lingkungan air minum dengan cara mencocokan pernyataan yang ada pada lembar formulir IKL dan apabila kondisi lapangan tidak sesuai dengan formulir IKL kesehatan lingkungan maka akan diberikan nilai dengan cara di lingkar pada nilai yang ada pada formulir.
2) Pemeriksaan sampel *Escherichia coli* dilakukan pengambilan sampel di lapangan dengan cara sebagai berikut:
   (1) Alat dan bahan
      a) Botol sampel steril
      b) Alkohol 70%
      c) Kertas label dan alat tulis
      d) Wadah penyimpanan sampel
   (2) Cara pengambilan sampel
      a) sterlkan
      b) buka air pada depot air minum, alirkan 2-3, kemudian tutup kembali.
      c) Buka tutup botol steril
      d) Isi botol dengan air sampai penuh
      e) Buang kembali air didalam botol sisakan ¾ botol
      f) Tutup kembali botol usahakan botol tetap dalam keadaan steril
      g) Berikan tabel pada sampel tersebut

h) Masukan sampel kedalam coolbox dan di antar ke Laboratorium Kemenkes Poltekkes Kupang Prodi D-III Sanitasi untuk pemeriksaan.

(3) Pemeriksaan *Escherichia coli* pada air minum di Laboratorium Mikrobiologi Prodi D-III Sanitasi

a) Pemeriksaan e.coli di laboratorium adapun alat dan bahan yang harus disiapkan untuk uji duga (*presumtive test*)

(a) Tabung reaksi yang telah disterilkan
(b) Tabung durham yang telah disterilkan
(c) Rak tabung reaksi
(d) Pipet steril dengan ukuran 10 ml dan 1 ml
(e) Bunsen
(f) Bulp atau pipet filter/pengisap
(g) Inkubator
(h) Sampel air
(i) Media LB1 dan LB 3yang disterilkan
(j) Alkohol
(k) Kapas
(l) Kertas label
(m) Korek api

b) Cara kerja

(a) Persiapan alat dan bahan yang di perlukan

(b) Bersihkan meja kerja dan cuci tangan menggunakan alkohol untuk memastikan area tetap steril

(c) Nyalakan api bunsen untuk menjaga lingkungan tetap steril

(d) Inkulasikkan masing-masing 10 ml sampel air ke dalam lima tabung yang berisi media LB 1 sterilkan menggunakan pipet ukur steril

(e) Masukan 1 ml sampel air ke dalam 5 tabung yang berisi media LB 1 menggunakan pipet ukur steril

(f) Tambahkan 0,1 ml sampel air ke dalam lima tabung yang berisis media LB 1 steril menggunakan pipet ukur steril

(g) Beri label pada setiap tabung sesuai dengan volume sampel yang di masukan (10 ml, 1 ml, 0,1 ml)

(h) Inkubasikan tabung tersebut dalam inkubator pada suhu 37°C selama 48 jam

(i) Amati perkembangan setiap tabung setiap 24 jam perhatikan juga gas yang terbentuk dalam tabung durham jika gas terbentuk dalam waktu 24 jam, hasil uji dianggap positif. Jika gas terbentuk setelah lebih dari 24 jam, hasil dianggap meragukan. Jika tidak ada gas setelah 48 jam, uji dianggap negatif. Untuk hasil positif atau meragukan, uji dapat dilanjutkan dengan uji penegasan.

c) Uji penegasan *(confirmed test)*

(a) Alat

(1) Tabung reaksi steril

(2) Tabung Durham steril

(3) Rak tabung reaksi

(4) Jarum ose

(5) Bunsen

(6) inkubator

(b) Bahan

(1) Hasil uji duga positif atau meragukan

(2) Media BGLB steril

(3) Alkohol

(4) Kapas

(5) Kertas label

(6) Korek api

(c) Cara kerja

(1) Persiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan

(2) Bersihkan meja kerja dan cuci tangan menggunakan alkohol

(3) Nyalakan api bunsen untuk menjaga area tetap steril

(4) Sterilkan jarum ose dengan membakarnya hingga merah membara, lalu biarkan dingin sejenak

(5) Ambil 2-3 mata ose dari spesimen hasil uji duga positif, lalu inokulasikan ke dalam 10 ml media BGLB steril

(6) Beri tabel pada tabung sesuai dengan label uji duga positif

(7) Inkubasikan tabung tersebut dalam inkubator

(8) Untuk pemeriksaan E-coli, inkubasi pada suhu 44-45°C selama 24 jam

(9) Amati adanya gelembung gas dalam tabung Durham. Jika gas terbentuk, hasilnya positif

(10) Jika gas terbentuk, catat hasil positif dan lanjutkan pemeriksaan E-coli menggunakan uji lengkap *(complete test)*

d) Uji lengkap *(complete test)*

(a) Alat

(1) Cawan petri

(2) Jarum ose

(3) Bunsen

(4) Inkubator

(b) Bahan

(1) Hasil uji penegasan dengan hasil positif

(2) Media EMBA steril

(3) Media LB 1 steril

(4) Alkohol

(5) Kapas

(6) Kertas label

(7) Korek api

(c) Cara kerja

(1) Siapkan alat dan bahan

(2) Bersihkan (aseptiskan) meja kerja dan tangan menggunakan alkohol

(3) Nyalakan bunsen

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

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

(6) Amati pertumbuhan koloni pada permukaan agar itu adakah koloni typical. Apabila dampak koloni typical maka uji dinyatakan hasilnya positif

(7) Buat piaraan cair dalam media LB 1 dari koloni typical tersebut dengan cara: mengambil dengan jarum ose steril 2 koloni typical pada agar EMBA dan segara dimasukan kedalam media LB 1 yang sudah disediakan

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

(9) Amati gas dalam tabung durham setiap 24 jam. Apabila terbentuk gas maka hasilnya positif.

F. Analisis Data

Hasil infeksi terhadap higiene dan sanitasi depot air minum isi ulang dianggap memenuhi syarat jika memperoleh nilai infeksi ≥80, sebagaimana diatur dalam Permenkes No. 4 Tahun 2021. Sebaliknya, jika hasil inspeksi < 80, maka depot dianggap tidak memenuhi syarat.

Selain itu, berdasarkan Permenkes No. 2 Tahun 2023, hasil pemeriksaan kandungan Escherihia coli pada depot air minum isi ulang yang memenuhi syarat jika 0=CFU/100 ml dan tidak memenuhi syarat jika >0 CFU/100 ml.